Aus dem Physiologischen Institut der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. E. Zerbst

Vergleichende phasenkontrastmikroskopische Untersuchungen und interferometrische Messungen zur Entstehung der LE-bodies.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Achaz P. Engel
aus Berlin

1974

Aus dem Physiologischen Institut der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. E. Zerbst

Vergleichende phasenkontrastmikroskopische Untersuchungen und interferometrische Messungen zur Entstehung der LE-bodies.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Achaz P. Engel
aus Berlin

Referent: Professor Dr. med. H.-J. Engel

Korreferent: Professor Dr. med. F. Trautmann

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 16. 5. 1974

Druck: Der Präsident der Freien Universität Berlin – Zentrale Universitätsdruckerei V aA 4, 1 Berlin 41

Einleitung:

In seinen Untersuchungen zur LE-Zell-Genese hat ENGEL (9) an überlebenden Blutzellen aus dem peripheren Blut des Menschen, mit einer direkten und indirekten Methode festgestellt, daß die LE-spezifische Wirkung eine Blockade der normalen Kerndegeneration ist. Dabei wurde gleichzeitig nachgewiesen, daß Kernquellung und Kernlyse Phasen der normalen Kerndegeneration sind. Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu Befunden anderer Autoren. Nach MIESCHER (29), MARMONT (1; 22) u.a. dringt der LE-Antikörper in die Zellen ein und zerstört sie von innen her durch Kernquellung und Kernlyse. Auch ROBINEAUX (33), RIFKIND und GODMAN (32) haben als das Charakteristikum der LE-Zell-Transformation Kernquellung und Kernlyse beschrieben. Letztere haben darüberhinaus interferenzmikroskopisch ein Ansteigen der Trockenmasse in LE-bodies gemessen. Wir stellen hier insbesondere die Untersuchungen von RIFKIND, GODMAN und ROBINEAUX in den Vordergrund, weil diese Autoren gleich uns, mit überlebenden Leukozyten gearbeitet haben. Um die Diskrepanz zu den Untersuchungsergebnissen der anderen Autoren zu klären, haben auch wir interferenzmikroskopische Untersuchungen an eigenem Patientengut durchgeführt.

Methode:

Wir haben für unsere Untersuchungen das Interferenzmikroskop nach JAMIN-LEBEDEFF benutzt[+], das an einem Zeiss-Interferometer (WL-Stativ) mit einem Objektiv Pol.Int. III 100/1,0 Oel und einem Okular Kpl. 8x sowie einem Netzmikrometer 10 x 10/20 bestückt war. Die Untersuchungen erfolgten im polarisierten Licht der Wellenlänge λ = 546 Å. Zur weiteren Ausrüstung gehörte neben

---

[+]Wir danken der Firma Carl Zeiss, Oberkochen, für die leihweise Überlassung des Interferenzmikroskops.

dem Senarmont-Kompensator $\lambda/4$ ein Interferenzfilter PIL 546 nm.

Die Trockenmasse (M) eines Zellkerns haben wir dann berechnet nach:

(1) $$M = \frac{\Phi \times A}{100\alpha}$$

Darin ist A die Fläche des zu bestimmenden Objektes. α isteine für das biologische Material festgesetzte Konstante; sie beträgt gleich 0,0018. Die Phasenverzögerung Φ muß in einem vorgeschalteten Rechenschritt ermittelt werden.

(2) $$\Phi = \frac{\measuredangle^{\circ} \times \lambda}{100}$$

$\measuredangle^{\circ}$ ist der Drehwinkel, der durch Kompensation ermittelt wird. λ ist die Wellenlänge des polarisierten Lichtes. In unserem Fall ist das λ , wie angegeben, gleich $0{,}546 \times 10^{-4}$ cm.

Dazu ein Rechenbeispiel: Mittels Kompensation wird die Phasenverzögerung, die ein in den Strahlengang eingebrachter Zellkern hervorruft, ermittelt. Sie sei $\measuredangle^{\circ} = 10{,}0^{\circ}$.

Die Fläche des Zellkerns A wird mit einem Netzmikrometer bekannter Kantenlänge (in μm) gefunden. Sie sei:

$$\begin{aligned} A &= 2{,}5 \times 42{,}25\ \mu m^2 \\ &= 105{,}63\ \mu m^2 \\ &= 105{,}63 \times 10^{-8}\ cm^2 \end{aligned}$$

Dann wird nach Formel (2) die Phasenverzögerung errechnet:

$$\Phi = \frac{10{,}0^{\circ} \times 0{,}546 \times 10^{-4}\ cm}{180^{\circ}}$$

$$= 0{,}03 \times 10^{-4}\ cm$$

Mit diesem Wert kann man nach Formel (1) die Trockenmasse des Zellkerns bestimmen. Sie beträgt:

$$M = \frac{0{,}03 \times 10^{-4} \times 105{,}63 \times 10^{-8}}{100 \times 0{,}0018} \text{ gm}$$

$$= 17{,}6 \times 10^{-12} \text{ gm}$$

Auch wir haben, wie RIFKIND und GODMAN (32), unsere Befunde in parallellaufenden phasenkontrastmikroskopischen Untersuchungen mikrofotografisch festgehalten und legen sie hiermit vor. Es wurde ein Zeiss-W-Stativ mit einem Objektiv Apo 100/1,32 Ph und einem Fotookular 6,3 x benutzt. Aufnahmekamera war eine Contax IIa, Filmmaterial Agfa Isopan 15 Din bzw. Kodak Panatomic X. Als Beleuchtungsquelle diente ein Zeiss-Blitzgerät. Als Filter wurden das VG 9 und ein Wärmeschutzfilter verwendet. Die Vergrößerung auf den Mikrofotogrammen beträgt $\sim$ 1500 : 1.

Die Entstehung der LE-Zellen wurde außerdem mikrokinematographisch festgehalten. Im Film wurden vergleichende Untersuchungen zur LE-Zell-Bildung im Supravitalpräparat und im Ausstrich dargestellt, deren Varianten und der Zelltod[+].

Für die phasenkontrastmikroskopischen Untersuchungen wird das Blut des jeweiligen Probanden (gesunde Versuchsperson oder Patient) aus der Fingerbeere entnommen. Der Bluttropfen wird sofort nach der Entnahme, also ohne je-

---

[+]Der Film D 1040 ist unter dem Titel: Die LE-Zelle im Supravitalpräparat und im Ausstrich - Varianten der Zellbildung und Zelltod - vom Institut für den Wissenschaftlichen Film in Göttingen veröffentlicht.

den Zusatz oder andere Vorbereitung, eingedeckt. Der Tropfen muß so klein sein, daß er sich - nach Auflegen des Deckglases - gerade eben bis an dessen Ränder ausbreitet. Dann liegen die Blutzellen einschichtig nebeneinander und die Präparathöhe beträgt etwa 3 bis 5 um.

In den Randbezirken des Präparats ist die Spalthöhe stets etwas geringer. Dort werden im Moment der Präparatherstellung die Leukozyten mechanisch derart geschädigt, daß die Zellmembran mit dem Protoplasma und den verklumpten Granulis bröcklig zerfällt (Substratleukozyten) und das Suspensionsmedium Zugang zum Zellkern hat. Eine derartig schnelle und starke mechanische Schädigung einzelner Leukozyten ist für die Schaffung freien Kernmaterials zur Untersuchung der LE-Zell-Genese eine wichtige Voraussetzung. Um das Austrocknen zu verhindern, werden die Präparate allseitig mit erwärmtem Paraffin verschlossen. Wir nennen diese Präparate "Vollblutpräparate", weil darin alle Blutzellarten enthalten sind. Für Untersuchungen überlebender Leukozyten in vitro sind sie bestens geeignet.

Für die Bestimmung der Trockenmasse von Leukozytenkernen im Interferenzmikroskop eignen sie sich dagegen nicht. Hierfür liegen die Zellen in diesen Präparaten noch zu dicht. Das Durchtrittsfeld für den Vergleichsstrahl, also das Umfeld, muß zellfrei sein! Um diese Bedingung für die interferometrischen Messungen zu erfüllen, haben wir "Auswanderungspräparate" hergestellt. Dazu wird ein etwas größerer Tropfen Blut, ebenfalls aus der Fingerbeere, entnommen und auf einem Objektträger 30 Min. lang in einer feuchten Kammer belassen. Während dieser Zeit gerinnt das Blut, und die Leukozyten wandern aus dem Koagulum auf die Oberfläche des Objektträgers aus. Nach dem Abheben des Koagulums wird das Präparat mit dem Serum des Probanden gespült und danach, wie die Vollblutpräparate, mit einem Deckgläschen eingedeckt und mit erwärmtem Paraffin verschlossen. Solche Präparate enthalten

dann praktisch nur Leukozyten, also insgesamt weniger und nicht so eng beieinanderliegende Zellen. Um das notwendige freie Kernmaterial zu erhalten, erfolgt auch hier die Zellschädigung mechanisch bei der Präparatherstellung.

Um die Ergebnisse vergleichen und Rückschlüsse ziehen zu können, haben wir die Entstehung der LE-bodies auch, in Anlehnung an RIFKIND und GODMAN, nach der Methode von DAVIS und EISENSTEIN (5) untersucht. Dazu werden 5 ml heparinisiertes Venenblut - zur Abtrennung der Erythrozyten - in einem Zentrifugenröhrchen aufgestellt. Vom erythrozytenfreien Plasmaüberstand werden dann 2 ml abpipettiert und vorsichtig 5 Min. zentrifugiert, damit die Thrombozyten eliminiert werden. Von dem überstehenden Plasma wird etwa die doppelte Menge des Zellrückstandes abpipettiert und verworfen. Damit wird eine Einengung der Leukozyten erreicht. Durch Aufschütteln werden die Zellen dann resuspendiert, ein Tropfen dieser Suspension wird auf einen Objektträger aufgetropft und wie ein Blutausstrich ausgestrichen. Zur Gewinnung von Substratzellen muß der Ausstrich 1 bis 2 Minuten an der Luft getrocknet werden. Auf diesen Ausstrich kommt ein Tropfen des jeweiligen Patienten- oder Probandenserums, der mit einem Deckglas eingedeckt und im Phasenkontrastmikroskop bei Zimmertemperatur untersucht wird.

Ergebnisse:

In den Untersuchungsreihen 1 bis 5 haben wir, sowohl im Blut gesunder Versuchspersonen als auch von LE-Patienten, die Degeneration ungeschädigter und geschädigter Blutzellen im Phasenkontrastmikroskop untersucht.

Untersuchungsreihe 1: Degeneration ungeschädigter Zellen im Blut gesunder Versuchspersonen.

An ungeschädigten Granulozyten im Blut gesunder Versuchspersonen machen sich die ersten Degenerationszeichen in der sich verstärkenden Kernwandhyperchromasie bemerkbar. Gleichzeitig vergröbern sich im Zytoplasma die Granula; es können auch Vakuolen auftreten. Zu diesem Zeitpunkt hat sich die Wanderungsgeschwindigkeit zwar verringert, die Zellwanderung ist aber noch gerichtet und gleichförmig. Im weiteren Verlauf kommt es dann zur Bildung multipler Pseudopodien. Die Zelle fällt damit aus dem Wanderungsstadium ins Bewegungsstadium zurück. Schließlich werden die multiplen Zytoplasmaausläufer irreversibel. Damit bleibt die Zelle am Ort. Wenig später fließen die Kernsegmente zusammen, der Kern wird pyknotisch, d.h. klein, rund und homogen-dunkel. Parallel dazu erfolgen perlschnurartig Abschnürungen der multiplen Zytoplasmaausläufer. Dann quillt der Kern intrazellulär. Dabei nimmt er aus dem solig gewordenen Zytoplasmarest Flüssigkeit auf, bis die Kernmembran (nach 50 bis 60 Stunden) schließlich platzt. Da die Zellmembran noch erhalten ist, wird der Zellrest ballonartig aufgebläht. Die Kerndegeneration, von der Pyknose bis zum Platzen der Kernmembran, verläuft bei ungeschädigten Zellen im gesunden Blut bei Zimmertemperatur innerhalb von 5 bis 10 Stunden (Bildserie I).

Untersuchungsreihe 2: Degeneration geschädigter Zellen im Blut gesunder Versuchspersonen.

Die Degeneration geschädigter Granulozyten (Substratzellen) spielt sich in einer erheblich kürzeren Zeit, innerhalb von nur wenigen Minuten ab und verläuft infolgedessen auch etwas anders.

Prinzipiell geht hier zuerst die Zellmembran zugrunde. Oft ist für kurze Zeit zwar davon noch ein Rest zu erkennen, solange nämlich, wie sie durch lysiertes Zytoplasma

einseitig und blasenartig abgehoben ist. Der größte Teil der Zellmembran zerfällt aber bei der Schädigung. Gleichzeitig verklumpen die Granula, so daß dann eine bröcklige Hülle den Kern locker umgibt.

Infolge des sehr schnellen Ablaufs des Geschehens fließen die Kernsegmente manchmal nicht zusammen. Das Pyknosestadium ist relativ kurz. Die Kernlyse setzt schnell und massiv ein. Der homogene Kern quillt und wird phasenhell. Schließlich drückt er die ihn umgebende Granulahülle auseinander und bricht aus ihr heraus. Homogenisation, Quellung und Lyse des Kerns sind also auch hier Phasen der normalen Degeneration. Im Gegensatz zu den ungeschädigten Zellen verläuft die Kerndegeneration bei den mechanisch geschädigten Zellen sehr schnell, meist innerhalb von 15 bis 30 Minuten (Bildserie II).

Untersuchungsreihe 3: Degeneration ungeschädigter Zellen im LE-Blut.

Die Degeneration ungeschädigter neutrophiler Granulozyten im LE-Zell-Faktor-haltigen Blut läuft zunächst ähnlich ab wie in Untersuchungsreihe 1 beschrieben. Es werden zwar auch hier, wenn auch nur schwach ausgeprägt, reversible Zytoplasmaausläufer gebildet. Irreversible Zytoplasmaausläufer und -abschnürungen treten aber nicht auf! Nach dem Zusammenfließen der Kernsegmente und der Homogenisation des Kerninhalts kommt es zur Pyknose. Solange die Zellmembran erhalten ist, saugt der Kern das solige Zytoplasma an und quillt intrazellulär. Sobald aber die Zellmembran lädiert ist und der Kern mit dem LE-Zell-Faktor-haltigen Suspensionsmedium in Kontakt kommt - das ist zumeist 40 bis 50 Stunden nach der Präparatherstellung - bleibt hier die weitere Kernquellung aus! Der Kern bleibt phasendunkel und verändert sich nicht weiter. Eine Kernlyse findet im LE-Blut nicht statt (Bildserie III)!

Untersuchungsreihe 4: Degeneration geschädigter Zellen im LE-Blut.

Bei Schädigung der Neutrophilen Granulozyten (Substratzellen) im LE-Zell-Faktor-haltigen Blut kommt der Kern - da das Zytoplasma mit der verklumpten Granula sofort nach der Schädigung bröcklig vom Kern abfällt - praktisch im Moment der Präparatherstellung mit dem LE-Zell-Faktor in Kontakt. Infolge der Schädigung läuft die Degeneration, wie in Untersuchungsreihe 2 beschrieben, quasi überstürzt ab. Auch hier beginnt der Kern zu quellen, er saugt aber dabei sofort das LE-Zell-Faktor-haltige Suspensionsmedium an. Bereits Minuten nach der Schädigung ist der Kern blokkiert und wird schollig. Später flacht er lediglich etwas ab. Danach verändert er sich nicht mehr. Die weitere Degeneration, d.h. Quellung und Lyse bleiben aus. Im Unterschied zur Untersuchungsreihe 3 sind hier die Kerne zumeist kleiner, weil sie früher blockiert worden sind, d.h. intrazellulär nicht quellen konnten. An den geschädigten Zellen kommt dadurch die Wirkung des LE-Zell-Faktors besonders deutlich zum Ausdruck (Bildserie IV).

Untersuchungsreihe 5: Entstehen und Degeneration einer LE-Zelle.

Wird der blockierte Kern einer Substrat-Zelle phagozytiert, entsteht eine LE-Zelle. Das Phagosom verändert sich dann intrazellulär relativ schnell; zunächst phasendunkel und schollig,wird es homogen und zunehmend phasenheller! Dabei gewinnt es außerdem an Größe. Damit verbunden ist eine Degranulation des Phagozyten (Bildserie V).

Nach Stunden machen sich auch an der LE-Zelle Degenerationszeichen bemerkbar. Der Kernwandhyperchromasie folgt der Aktionsverlust. Schließlich degeneriert die LE-Zelle ähnlich wie das in Versuchsreihe 3 beschrieben ist; die reversiblen Ausläufer werden auch hier ohne Abschnürungen zurückgebildet. Auf die Kernpyknose folgt ebenfalls nur

eine geringgradige Kernquellung, die solange dauert, bis die Zellmembran lädiert ist. Erst dann gelangt der LE-Zell-Faktor an den Kern und blockiert ihn. Ab dann verändern sich auch diese Kerne nicht mehr (Bildserie VI)!

Die Degeneration der LE-Zellen ist zeitlich nur wenig kürzer als die der anderen Granulozyten, die nicht phagozytiert haben. Deshalb sind zu diesem Zeitpunkt keine Phagozyten mehr vorhanden, die noch imstande wären, den blockierten Kern der degenerierten LE-Zellen zu phagozytieren. Es kann also aus zeitlichen Gründen keine weitere LE-Zell-Bildung mehr erfolgen!

Zusammenfassend ergibt sich aus den phasenkontrastmikroskopischen Untersuchungen, daß die Kernhomogenisation, die Kernquellung und die Kernlyse keine LE-spezifischen Veränderungen, sondern Phasen der normalen Kerndegeneration sind! Das ergab sich sowohl an ungeschädigten als auch an mechanisch geschädigten Zellen im Blut Gesunder und im Patientenblut. Auch im LE-Zell-Faktor-haltigen Blut sind die Homogenisation des Kerninhalts und die anfängliche, geringgradige Kernquellung Phasen der normalen Kerndegeneration! LE-spezifisch dagegen ist das Ausbleiben der Kernlyse, also die Verhinderung der normalen Kerndegeneration. Eine solche Kernblockade tritt immer dann ein, wenn der Zellkern mit dem LE-Zell-Faktor in Kontakt kommt. Da der LE-Zell-Faktor nicht in die Zelle eindringen kann, muß die Zellmembran zerstört sein, damit die Antigen-Antikörper-Reaktion am Kern erfolgen kann!

In den folgenden Meßreihen 6 bis 10 haben wir an Granulozyten in Auswanderungspräparaten die Trockenmasse der Kerne interferenzmikroskopisch gemessen. Die einzelnen Messungen wurden zeitlich solange vorgenommen, bis entweder die Kerne zum umgebenden Medium keinen meßbaren Kontrast mehr ergaben, d.h. sich nicht mehr "schwärzen"

ließen und damit keinen signifikanten Gangunterschied zum umgebenden Suspensionsmedium mehr aufwiesen, oder bis die Trockenmasse der Kerne über längere Zeit (Stunden) konstant blieb.

Meßreihe 6: Messungen an degenerierenden Kernen ungeschädigter Zellen im Serum gesunder Versuchspersonen.

Als ungeschädigt gelten alle Zellen, die etwa bis zu 24 Stunden nach der Präparatherstellung noch wandern oder sich wenigstens bewegen. Nach Einstellen der Zellbewegung, also mit dem Auftreten der multiplen Pseudopodien, bleiben diese Zellen dann am Ort liegen und sind zu wiederholten Messungen immer wieder leicht aufzufinden.

Die pyknotischen Kerne imponieren im Interferenzmikroskop als geometrisch nahezu runde, homogene Körper von maximaler Phasendunkelheit. Im Laufe der weiteren Beobachtung werden sie ständig phasenheller. Nach 60 Stunden ist die Differenz der Phasenverzögerung zwischen Kern und umgebendem Medium so gering geworden, daß sie dann nur noch schwer und nach 72 Stunden überhaupt nicht mehr festzustellen ist! In der gleichen Zeit hat sich die Kernfläche fast auf das 4-fache vergrößert!

Insgesamt haben wir in 9 Versuchsreihen 83 Zellen untersucht. Jeder Zellkern ist innerhalb von 24 Stunden 4-mal gemessen worden. Weil im Laufe der Untersuchungen, in einigen Fällen Fibrinausfällungen oder Anlagerungen anderer Leukozyten an die Meßzellen ein weiteres Messen unmöglich machten, gehen nicht alle Zellkerne in das Endergebnis ein. Von den 83 untersuchten Kernen haben wir deshalb nur 57 auswerten können.

Zur Erläuterung unserer Untersuchungen soll hier ein Rechenbeispiel gegeben werden: Von dem Präparat Nr. 30 aus der Meßreihe 6 sind die Meßwerte der ersten 5 Zellkerne aufgeführt. Die Messungen erstreckten sich über 4 Tage,

weil bei diesen Zellkernen nach 4 Tagen die Phasenverzögerung dem umgebenden Medium angeglichen, d.h. ihre Trockenmasse nun annähernd gleich Null war. Um das Prinzipielle der Rechnung nahezubringen, sind der Drehwinkel (α°) und die Fläche (A) angegeben. Diese beiden Daten sind dann, wie oben (Seite 2) angegeben, in die Formeln (1) und (2) eingesetzt und rechnerisch verwertet worden (Rechenbeispiel und Tabelle 1, Seite 42 und 45).

Alle Einzelergebnisse der Meßreihe 6 sind in Diagramm I (Seite 50) zusammengefaßt. Die Meßwerte, die sich 24, 48 bzw. 72 Stunden nach der Präparatherstellung ergaben, sind nach Anzahl und Trockenmasse in Beziehung gesetzt. Diese Darstellungsform haben wir in Anlehnung an RIFKIND und GODMAN gewählt, um die Ergebnisse besser vergleichen zu können. Während 24 Stunden nach der Präparatherstellung die durchschnittliche Trockenmasse der Zellkerne 22,1 ± 0,4 x 10^{-12} gm beträgt, ist sie nach 72 Stunden auf 0,8 ± 0,4 x 10^{-12} gm zurückgegangen. Bei ständig abfallender Phasenverzögerung ergibt sich gleichzeitig eine starke Flächenzunahme des Kerns, was in den angegebenen Meßwerten des Rechenbeispiels (Seite 42) zum Ausdruck kommt.

Meßreihe 7: Messungen an degenerierenden Kernen geschädigter Zellen im Serum gesunder Versuchspersonen.

Die Degeneration von Zellkernen geschädigter Granulozyten in normalem Serum verläuft, wie beschrieben, sehr schnell. Es kommt hier nur selten und wenig ausgeprägt zur Kernpyknose. Ein konstantes Ausgangsmaximum der Phasendunkelheit ist deshalb an den Kernen der Substrat-Granulozyten nicht genau zu erfassen. Die Trockenmasse dieser Kerne nimmt sehr schnell ab und ist, infolge der Kernlyse, die sich in 15 bis 30 Minuten bereits abgespielt hat, zu diesem Zeitpunkt bereits gleich Null. Es ergeben sich infolgedessen nur wenige Meßpunkte, aber nach kurzer Zeit stets einheitliche Endergebnisse. Es wird deshalb auf die gra-

phische Darstellung der Meßreihe verzichtet!

Meßreihe 8: Messungen an degenerierenden Kernen geschädigter Zellen im Serum von LE-Patienten.

Insgesamt haben wir in 5 Versuchsreihen 52 Messungen an Zellkernen von Substrat-Granulozyten durchgeführt. Da hier eine Phagozytose solcher Kerne, also die LE-Zell-Bildung, oft ein weiteres Messen verhinderte, sind wiederum nicht alle Zellen in das Endergebnis eingegangen. Von den 52 Kernen sind deshalb nur 42 ausgewertet worden. Die Meßdaten sind dem Diagramm II (Seite 51) zu entnehmen.

Nach der Präparatherstellung beträgt die durchschnittliche Trockenmasse der Zellkerne 20,2 ± 0,8 x 10^{-12} gm. Im Gegensatz zur Meßreihe 7 bleiben hier sowohl der Drehwinkel ($\measuredangle^{o}$) als auch die Fläche (A) der Zellkerne sehr bald konstant. Mit einsetzender Kernquellung werden diese Kerne durch den LE-Zell-Faktor blockiert, so daß die Trockenmasse ab dann unverändert erhalten bleibt! Sie ist nach 72 Stunden mit 21,9 ± 0,6 x 10^{-12} gm noch fast konstant! Die geringgradige Zunahme des Wertes ist durch das Abflachen der blockierten Kerne nach einiger Zeit bedingt.

Meßreihe 9: Messungen an degenerierenden Kernen ungeschädigter Zellen im Serum von LE-Patienten.

Wie im Serum gesunder Versuchspersonen (Meßreihe 6), so ist auch hier die erste Messung nach 24 Stunden gemacht. Insgesamt sind in 4 Versuchsreihen 48 Granulozytenkerne untersucht worden. 2 Zellkerne fallen im weiteren Verlauf für die Messung aus, so daß nur 46 Zellkerne in das Endergebnis eingehen. Diese Meßwerte sind dem Diagramm III (Seite 52) zu entnehmen. Die durchschnittliche Trockenmasse der Zellkerne beträgt 24 Stunden nach der Präparatherstellung 19,6 ± 1,4 x 10^{-12} gm. Nach 72 Stunden liegt der aus den

46 Kernen errechnete mittlere Endwert der Trockenmasse bei 16,8 ± 2,3 x 10^{-12} gm. In dieser Meßreihe vermindert sich die Phasenverzögerung etwas. Dem parallel läuft aber eine stärkere Flächenzunahme der Zellkerne, bedingt durch die stärkere intrazelluläre Quellung vor der Läsion der Zellmembran, so daß sich insgesamt eine nur geringe Abnahme der Trockenmasse ergibt! Die anfängliche Verminderung der Phasenverzögerung weist - im Vergleich mit Meßreihe 8 - auf eine zeitlich spätere Blockade der Zellkerne durch den Antikörper hin.

Einige Zellkerne sind während der Degeneration "zerbröckelt". Das kommt in der größeren Streubreite der Werte - kenntlich an der breiteren Basis der Pyramiden in Diagramm III(Seite 52) - zum Ausdruck. Dennoch geht auch aus dieser Meßreihe deutlich hervor, daß nach der Fixation des LE-Zell-Faktors am Kern ein weiterer Trockenmassenverlust ausbleibt.

In Meßreihe 10 werden 20 Zellkerne ungeschädigter Granulozyten in einem anderen LE-Serum untersucht. Diese Meßergebnisse sind dem Diagramm IV zu entnehmen (Seite 53). Die durchschnittliche Trockenmasse dieser Zellkerne liegt, 24 Stunden nach der Präparatherstellung, bei 21,4 ± 1,5 x 10^{-12} gm; der Endwert, nach 72 Stunden, bei 18,8 ± 1,1 x 10^{-12} gm. Dieser Wert wird dann auch über den weiteren Beobachtungszeitraum beibehalten. Auch hier bleibt die Trockenmasse der Zellkerne, nach Kontakt mit dem LE-Zell-Faktor, wieder konstant!

Zusammenfassend ergibt sich aus unseren interferometrischen Untersuchungen: Im Blut gesunder Versuchspersonen fällt die Trockenmasse der Granulozytenkerne, sowohl bei den geschädigten Substrat-Granulozyten als auch bei den ungeschädigten Vergleichszellen, kontinuierlich bis auf Null ab. Die Unterschiede sind nur zeitlicher Art! Die Kerne der Substratzellen (= geschädigte Granulozyten)

erreichen diesen Wert in Minuten, die Kerne der Vergleichszellen (= ungeschädigte, alternde Granulozyten) erst nach Stunden!

Die Kerne geschädigter Granulozyten in LE-Zell-Faktor-haltigem Suspensionsmedium werden dagegen bereits kurz nach Einsetzen der Quellphase blockiert! Deshalb bleibt bei den geschädigten Zellen die Trockenmasse der Kerne - mit der geringen Zunahme von 1×10^{-12} gm - praktisch über den gesamten Zeitraum der Untersuchung konstant. Bei den Kernen der langsam degenerierenden Vergleichs-Granulozyten kommt es zunächst zu einem geringgradigen Trockenmassenverlust, der dadurch bedingt ist, daß sie intrazellulär eine Zeitlang ungehindert quellen können und erst nach Läsion der Zellmembran - also in einem etwas fortgeschrittenen Degenerationsstadium - mit dem LE-Zell-Faktor in Berührung kommen. Dann aber sind auch diese Kerne blockiert!

Diskussion:

Unsere Aufgabe war es, in Anlehnung an RIFKIND und GODMAN (32), sowohl phasenkontrastmikroskopische als auch interferenzmikroskopische Untersuchungen an eigenem Patientengut - mit besonderer Aufmerksamkeit auf die Entstehung von LE-bodies und die LE-Zell-Genese - durchzuführen.

Prinzipiell sollte es gleichgültig sein, welche Untersuchungsmethode angewendet wird, wenn nur garantiert ist, daß der LE-Zell-Faktor, freies Kernmaterial und vitale, phagozytosefähige Leukozyten Kontakt miteinander haben. Nur unter dieser Bedingung kann die Bildung von LE-bodies und von LE-Zellen erfolgen.

HARGRAVES (14, 15), der die erste Mitteilung über LE-Zellen in menschlichen Knochenmarkausstricken gemacht hat, gab 1949, zusammen mit ZIMMER (42), auch eine Nachweismethode

an. Dazu wird koaguliertes Vollblut - nach 1 1/2-stündiger Inkubation im Brutschrank bei 37° C - durch einen feinen Maschendraht gepreßt und dann 10 Minuten zentrifugiert. Zur Kontaktaufnahme der genannten drei Faktoren wird das Blut nochmals 30 Minuten in den Brutschrank gegeben. Dann wird die Leukozytenschicht auf einem Objektträger ausgestrichen und nach PAPPENHEIM gefärbt. HARGRAVES hat später (16) darauf hingewiesen, daß die Ausbeute an LE-Zellen um so ergiebiger ist, je länger die Kontaktzeit ist! MIESCHER hat das Verfahren nach ZIMMER und HARGRAVES als die optimale Nachweismethode empfohlen (27).

Nach MARMONT (24, 25) kann die LE-Zell-Bildung potenziert werden, wenn als freies Kernmaterial spendende Zellen (= Substratzellen) geschädigte Granulozyten verwendet werden. Er benutzt deshalb zum Nachweis der LE-Zellen in vitro eine modifizierte Methode nach ZINKHAM und CONLEY (43), bei der defibriniertes Vollblut mit Glasperlen geschüttelt wird. Ein Teil der am Phänomen beteiligten Zellen (Substratzellen) wird geschädigt. Dadurch wird dem LE-Zell-Faktor der Weg zum Kern erleichtert und die LE-Zell-Bildung beschleunigt und potenziert. RUHL und JUCHSEN (37) haben u.a. bei Anwenden dieser Methode eine hohe Ausbeute an LE-Zellen bestätigt.

ROBINEAUX (34, 35), ROHN und BOND (36), RIFKIND und GODMAN (32) und ENGEL (8, 9) haben Untersuchungen zur LE-Zell-Genese an überlebenden Zellen durchgeführt. Während ROBINEAUX die Substratzellen in HANK'sche Lösung resuspendierte, verwendeten die anderen Autoren autologes bzw. homologes menschliches Serum als Suspensionsmedium. Es gibt noch andere Nachweisverfahren, wir verweisen dazu auf BEICKERT (3). Sie unterscheiden sich alle nur mehr oder weniger in der Schädigungsart der Substratzellen. INDERBITZEN (18, 19) z.B. schädigt sie, indem er Blut mit einem Glasstab durchrührt, GERMAN und HUBER (12), indem sie die

Zellen auf -50° C einfrieren. ROBINEAUX (34, 35) schädigt die Zellen durch längeres Stehenlassen, DAVIS und EISENSTEIN (5) durch Lufttrocknen der Blutausstriche und LEE (22) mit Atabrin. Zumeist werden von den Autoren nur Angaben zur Schädigungsart gemacht, d.h. ob die Substratzellen physikalisch oder chemisch geschädigt worden sind, nicht aber zum jeweiligen Grad der Schädigung und deren Folgen.

Der Grad der Zellschädigung spielt aber eine so wichtige Rolle, weil ja eine der geforderten Bedingungen für die Entstehung von LE-Zellen die nach freiem Kernmaterial ist. Kennt man die Folgen der Zellschädigung, dann können spezifische von unspezifischen Veränderungen unterschieden werden, was insbesondere bei der Entstehung der LE-bodies von Bedeutung ist.

Wir haben das Entstehen der LE-Zellen an überlebenden Blutzellen im Deckglaspräparat untersucht. Im Schrifttum sind die Angaben zur Untersuchung überlebender Leukozyten in Deckglaspräparaten äußerst unvollkommen. Zumeist heißt es zur Präparatherstellung nur: "Man gibt auf einen Objektträger einen kleinen Tropfen Blut und legt ein dünnes Glasplättchen darauf." (11). Wir haben festgestellt, daß auf die Präparatherstellung, sowohl aus physikalischen als auch aus biologischen Gründen, äußerste Sorgfalt gelegt werden muß.

Wenn ein gutes Mikroskop auch ein brillantes Bild wiedergeben soll, dann muß das Präparat möglichst dünn sein (17). Es sollen sich weder Zellen noch einzelne Zellstrukturen überlagern. Das wird bei den Deckglaspräparaten nur erreicht, wenn die Höhe der Präparatkammer entsprechend gering gehalten wird. Für unsere Untersuchungen ergab sich eine Kammerhöhe von 3 bis 5 µm als das Optimum. In solchen Kammern liegen die Zellen einzeln und nicht zu dicht nebeneinander und sind gut ausgebreitet. Zieht man die

Zellbewegung, das älteste und einfachste Vitalitätskriterium, zur Beurteilung der Zellen im in-vitro-Präparat heran, dann ergibt sich, daß in Präparaten von 3 bis 5 µm Höhe die überlebenden Leukozyten ihre stärkste Aktivität entwickeln (7). Blutzellen sind nicht nur relativ unempfindlich gegen mechanische Deformationen, sondern werden dadurch sogar stimuliert. Auch in vivo, z.B. während der Emigration (10) und später in den Gewebsspalten, sind sie starken Pressionen und Verformungen ausgesetzt.

In zu dicken Präparaten ist nicht nur das mikroskopische Bild der Leukozyten schlecht, sondern es ist auch ihre Bewegung nur minimal. Sie erreichen kaum das Wanderungsstadium und degenerieren früher (7). In Präparaten unter 3 µm werden die meisten Leukozyten geschädigt oder zerstört. Eine Schädigung drückt sich bereits darin aus, daß sich die Zellen nicht mehr fortbewegen können. Solche Leukozyten degenerieren schon nach wenigen Stunden. Andere können sich zwar noch fortbewegen, vakuolisieren aber frühzeitig und stark. Dabei gibt besonders der Kern Flüssigkeitsbläschen ab! Auch solche Leukozyten degenerieren vorzeitig. Extrem weit ausgebreitete Zellen mit lysiertem und deshalb homogen-hellem Kern bzw. Kernsegmenten, wie sie SCHÖNENBERG (38) beschrieben hat, sind zerstört! Eine ev. Granulakinetik in solchen Zellen ist nur BROWN'sche Molekularbewegung. Bei der Untersuchung von Blutzellen in Deckglaspräparaten von 3 - 5 µm Höhe ergänzen sich also die physikalisch-optischen Forderungen und die biologischen Bedingungen in idealer Weise! Für die LE-Zell-Bildung ist die Zellvitalität von besonders großer Bedeutung.

In solchen Präparaten werden aber auch, vor allem in den etwas flacheren Randpartien, insbesondere Neutrophile Granulozyten bei der Präparatherstellung mechanisch geschädigt! Dabei wird die Zellmembran zerstört und die Granula verklumpen gleichzeitig, d.h. die Zytoplasmahülle zerfällt bröcklig (8). Der Zellkern kommt infolgedessen praktisch

sofort nach der Schädigung mit dem Suspensionsmedium in Kontakt. Während der Schädigung fließen die Kernsegmente fast immer zusammen, und der Kerninhalt wird homogen. Schnell wird der Kern dann pyknotisch, d.i. rund, klein und dunkel! Oft werden dabei, zumeist einseitig, an seinem Rand sogenannte Kernhäubchen sichtbar. Dieses in der Pyknose ausgepreßte, hell erscheinende Kernwasser wird kurz darauf wieder aufgenommen, und mit der weiteren Flüssigkeitsaufnahme aus dem Suspensionsmedium erfolgt dann eine massive Kernquellung bis zur Kernlyse!

Die Folgen dieser mechanischen Schädigung sind also: Die Zerstörung der Zellmembran, das Zusammenfließen der Kernsegmente und deren Homogenisation, die Kernpyknose sowie die anschließende Kernquellung und Lyse. Lediglich stark verkürzt, entspricht das den verschiedenen Stadien der Kerndegeneration, wie sie auch bei der normalen Zellalterung ablaufen. Diese Vorgänge sind ebenfalls von UNDRITZ (40), KOCH und LÜBBERS (21), ZOLLINGER (44), BESSIS (4) u.a. beschrieben worden.

Bei der Untersuchung des Blutes von LE-Patienten mit unserer Methode sind im Augenblick der Präparatherstellung alle zur LE-Zell-Bildung geforderten Bedingungen erfüllt: Neben den vitalen, phagozytosefähigen Granulozyten befinden sich die freigesetzten Kerne der geschädigten Granulozyten (Substratzellen) und der LE-Zell-Faktor in engem Kontakt. Da die Phagozyten schnell ihre maximale Wanderungsgeschwindigkeit erreichen, kommt es relativ bald zur LE-Zell-Bildung. Ein Vorteil unserer Methode liegt u.a. darin, daß der Grad der Zellschädigung sofort zu erkennen ist und das Entstehen der LE-bodies sowie die LE-Zell-Genese direkt und wiederholt beobachtet werden kann!

Im Blut von LE-Patienten sind die Degenerationsvorgänge an den Substratzellen bis kurz nach der Kernpyknose dieselben wie im Blut gesunder Versuchspersonen. Hier bleibt

dann aber die massive Kernquellung und Kernlyse aus! Die Kerne der Substratleukozyten werden kurz nach Beginn ihrer Quellung durch den LE-Zell-Faktor blockiert; mit anderen Worten, der LE-Zell-Faktor verhindert die weitere Kerndegeneration. Die Blockade kommt darin zum Ausdruck, daß die Kerne dunkel bleiben und meist relativ bald grobschollig werden. Von Fall zu Fall können die LE-bodies geringe Größenunterschiede aufweisen und dann mehr oder weniger schollig strukturiert sein, je nachdem, ob die Kernblockade sehr schnell oder etwas langsamer stattgefunden hat. Eine unterschiedliche Titerhöhe im jeweiligen Patientenblut kann u.a. dafür der Grund sein. Das LE-Spezifische, die Kernblockade, ist aber in jedem Fall eingetreten und deutlich erkennbar!

Die spezifische Wirkung des LE-Zell-Faktors wird aber auch an den Kernen aller anderen, ungeschädigten, durch Alterung langsam degenerierten Zellen im LE-Serum sowie an degenerierten LE-Zellen bestätigt. Solange die Zellmembran der degenerierenden Zellen erhalten ist, kann der Kern intrazellulär quellen. Wird aber die Zellmembran lädiert, was meist durch den quellenden Kern selbst geschieht, dann erfolgt fast augenblicklich die Kernblockade. Je früher der LE-Zell-Faktor mit den quellenden Kernen in Kontakt kommt, um so deutlicher ist die Kernblockade, d.h. je kleiner, dunkler und schollig strukturiert sind die LE-bodies.

Diese Ergebnisse aus unseren Untersuchungen stehen im Gegensatz zu den Befunden von RIFKIND und GODMAN (32). Wir gehen hier besonders auf deren Untersuchungen ein, weil in vielen anderen Arbeiten zu diesem Thema auf diese Untersuchungen verwiesen wird.

RIFKIND und GODMAN sowie viele andere Autoren auch, schreiben dem LE-Zell-Faktor eine lysierende Wirkung auf die Kerne der Substratzellen zu. Generell unterteilen sie das LE-Zell-

Phänomen in zwei Phasen: In der ersten Phase treten Kernveränderungen in Form gequollener, strukturloser Massen auf; es vollzieht sich die entscheidende Transformation zum LE-body. In der zweiten Phase werden die LE-bodies phagozytiert.

RIFKIND und GODMAN haben die Entwicklung von LE-bodies und die LE-Zell-Genese mit zwei verschiedenen Methoden untersucht; nach DAVIS und EISENSTEIN (5) und mit der Methode von LEE (22). Nach ihren Angaben sind bei beiden Methoden die LE-charakteristischen Veränderungen am Kern der Substratzellen und die LE-Zell-Bildung gleich. Beide Methoden unterscheiden sich lediglich in der Art der Zellschädigung. Bei der Vorbehandlung nach LEE tritt nur eine zeitliche Verzögerung der Vorgänge von etwa 90 Minuten ein. In dieser Zeit wirkt sich das Atabrin schädigend auf die Zellmembran der Substratleukozyten aus. Ab dann sollen alle charakteristischen Veränderungen in gleicher Art und Zeit ablaufen, wie bei der Methode von DAVIS und EISENSTEIN. Auf den publizierten Mikrophotogrammen werden deshalb auch nur Substratleukozyten gezeigt, die nach dieser Methode geschädigt wurden.

Auch als Substratleukozyten haben RIFKIND und GODMAN zwei verschiedene Zellarten, Granulozyten und Lymphozyten, verwendet. Zum Schädigungsgrad der Substratzellen und zu den Folgen der Schädigung ist von ihnen aber nichts Näheres angegeben. Zur Entstehung der granulozytären und lymphozytären LE-bodies machen sie dagegen detaillierte Angaben. Danach beginnen an den Granulozytenkernen schon 5 bis 10 Sekunden nach Zugabe des LE-Serums folgende charakteristische Veränderungen:

1. Praktisch mit der Zugabe des Serums verschwindet die Chromatinzeichnung der Kerne, der Kerninhalt wird homogen!

2. Fast gleichzeitig erfolgt eine schnelle Kernquellung, wobei die Kernbrücken zerreißen, so daß die Individualität der Kernsegmente erhalten bleibt. Die quellenden Kernsegmente brechen schließlich die Zellmembran von innen her auf und quellen aus der Zelle heraus!
3. Die derart veränderten Kernsegmente, nun LE-bodies, weisen eine stärkere Phasendunkelheit auf als vor Zugabe des LE-Serums!

Nach RIFKIND und GODMAN sind diese, für den Lupus erythematodes charakteristischen Veränderungen an den Kernen der Granulozyten meist schon nach 2 bis 3 Minuten, spätestens aber nach 10 Minuten abgeschlossen.

An den Kernen der Substrat-Lymphozyten sollen sich, nach Zugabe von LE-Serum, prinzipiell ähnliche Veränderungen abspielen, wenn auch mit geringfügigen Unterschieden:

1. Die Entwicklung zum LE-body geht langsamer. Die Veränderungen beginnen erst einige Minuten nach Einwirken des LE-Serums.
2. Die Veränderungen sind weniger ausgeprägt als bei den Granulozyten. So ist z.B. die Homogenisation der lymphozytären LE-bodies weniger deutlich. Sie sind auch nicht phasendunkler, sondern phasenheller als die Kerne vor Zugabe von LE-Serum.
3. Der gesamte Transformationsvorgang zum LE-body ist später abgeschlossen als bei den Granulozyten!

In den Kontrollpräparaten, bei denen der Zellausstrich statt mit LE-Serum mit normalem Serum überschichtet wurde, verlieren die Kerne der Substratgranulozyten ebenfalls schnell ihre Chromatinzeichnung. Sie werden aber phasenhell und quellen nicht aus der Zelle heraus! Von den Segmenten des Zellkerns bleibt ein negatives Bild!

Die Kerne der Substratlymphozyten verändern sich nicht. Ihre Chromatinstrukturen sind auch 20 Minuten nach Zugabe des Normalserums noch erhalten!

Zur Aufklärung der Diskrepanzen zu unseren Befunden haben wir vergleichsweise auch die Methode von DAVIS und EISENSTEIN angewendet. Dabei wurden zunächst die Folgen der Schädigung untersucht. Dazu wurde entsprechend vorbehandeltes LE-negatives Probandenblut ausgestrichen, 1 bis 2 Minuten getrocknet und darauf dann ein Tropfen autologes Serum getropft und das Präparat eingedeckt. Die Granulozyten reagieren sofort und am empfindlichsten. Sie sind gleich nach der Präparatherstellung stark geschädigt.

Gibt man das Serum unter dem Mikroskop dazu und beobachtet am Anfang des Ausstrichs, läßt sich das Geschehen verfolgen. Offensichtlich durch die kürzere Trocknungszeit am Ausstrichanfang wirkt sich die Schädigung hier nicht so drastisch und mit einer zeitlichen Verzögerung aus. Zumeist einseitig aufgebläht und mit lysiertem Zytoplasma angefüllt, bleibt ein Teil der Zellmembran noch eine Zeitlang erhalten. Die Kernsegmente fließen nicht zusammen. Sie werden aber schnell homogen und phasenhell und imponieren schließlich nur noch als helle Löcher. Sie lysieren praktisch im Moment der Serumzugabe (Bildserie VII). Hier befinden sich unsere Befunde in Übereinstimmung mit denen von RIFKIND und GODMAN. Bei den Lymphozyten aber ergeben sich in ein und demselben Präparat deutliche Unterschiede. Sie sind zwar am Ausstrichende auch stärker geschädigt als an dessen Anfang, prinzipiell widerstehen sie aber der schädigenden Wirkung des Trocknungsprozesses erheblich länger als die Granulozyten. Um die Lymphozyten genügend zu schädigen, muß die Trocknungszeit deshalb mindestens mehrere Minuten dauern! Es bestehen außerdem graduelle Unterschiede zwischen großen und kleinen Lymphozyten. Die Kerne aller Lymphozyten werden relativ langsam homogen, quellen, wobei sie phasenhell werden, und

platzen schließlich intrazellulär; die Kerne der großen Lymphozyten aber früher als die der kleinen. Zu diesem Zeitpunkt ist die Zellmembran dann ballonartig aufgebläht. Bei den großen Lymphozyten platzt sie relativ bald, während sie bei den kleinen Lymphozyten noch lange erhalten bleibt (Bildserie VIII und IX). Die Kernveränderungen der großen und mittleren Lymphozyten im normalen Serum lassen sich zeitlich zwischen die der Granulozyten und kleinen Lymphozyten einordnen.

RIFKIND und GODMAN haben an den Lymphozyten in normalem Serum (= Kontrollpräparate) auch nach 20 Minuten noch keine Veränderungen registriert! Ihre Lymphozyten - es waren kleine Lymphozyten - wiesen dann noch immer "normal verklumpte Chromatinstrukturen" auf. Für die sehr viel widerstandsfähigeren Lymphozyten hat ganz offensichtlich die Trocknungszeit nicht ausgereicht, um eine wirksame Schädigung zu erzielen. Hier haben sich bedeutende Unterschiede in den Befunden ergeben, die zu falschen Schlußfolgerungen geführt haben!

Wir finden also, daß bei der Schädigung durch das Lufttrocknen nach DAVIS und EISENSTEIN in ein und demselben Präparat die Substratzellen unterschiedlich geschädigt sind. Der Grad der Zellschädigung hängt von der Trocknungszeit und von der Zellart ab! Da der Anfang eines Blutausstrichs stets dicker ist als das Ende, trocknet er auch vom Ende her auf. Infolgedessen sind die Zellen am Ausstrichende dem Trocknungsprozeß länger ausgesetzt. Der Grad der Schädigung ist dort entsprechend stärker. Die von DAVIS und EISENSTEIN angegebene Trocknungszeit von 1 bis 2 Minuten ist zwar relativ kurz und nur bei minimaler Tropfengröße und schnellem Ausstreichen zu erzielen, dennoch machen sich schon bei dieser kurzen Zeit die angegebenen Unterschiede an den Granulozyten bemerkbar. Für die Schädigung der Lymphozyten dagegen reicht sie nicht aus! Die unterschiedliche Widerstandsfähigkeit von Granulozyten und Lymphozyten kommt auch in vivo in der er-

heblich längeren Überlebenszeit der Lymphozyten zum Ausdruck. Untersuchungen an überlebenden Leukozyten im Deckglaspräparat (6) ergaben ein ähnliches Verhalten. Auch dort überleben die Lymphozyten länger, offensichtlich, weil sie gegen die Präparatbedingungen resistenter sind als die Granulozyten.

Werden die 1 bis 2 Minuten luftgetrockneten Präparate mit LE-Zell-Faktor-haltigem Serum überschichtet und am Ausstrichende untersucht, dann ergibt sich bei den Granulozyten schon gleich nach der Präparatherstellung ein relativ einheitliches Bild. Die Kernsegmente sind dunkel-homogen und ragen aus der Zelle heraus (Bildserie X). Im Vergleich zu den entsprechenden Kernen der Kontrollpräparate (Bildserie VII) sind sie - wie das auch RIFKIND und GODMAN angegeben haben - deutlich phasendunkler.

Das Geschehen bei der Entstehung der granulozytären LE-bodies läßt sich wieder im Mikroskop verfolgen, wenn man das Präparat nur eben auftrocknen läßt, das LE-Serum erst unter dem Mikroskop dazugibt und im Ausstrichanfang beobachtet. Dort ist die Trocknungszeit minimal, und die Veränderungen sind zeitlich verzögert. Da der Zellkern am empfindlichsten ist, wird er stets zuerst geschädigt; er degeneriert, d.h. er quillt intrazellulär solange, bis die Zellmembran lädiert ist. Dann gelangt der LE-Zell-Faktor an diese degenerierenden Kernsegmente und blockiert sie. Sie werden dadurch phasendunkel, rigide (8) und ragen beulenartig aus der Zelle. Es sind nun LE-bodies, die sich nicht mehr verändern (Bildserie XI).

Lymphozytäre LE-bodies entstehen gleich nach der Präparatherstellung nur nach relativ langer Trocknungszeit (mehrere Minuten mindestens!). Nur dann ist die Schädigung der Lymphozyten so stark, daß bei Zugabe des LE-Se-

rums die Zellmembran zugrunde geht und der LE-Zell-Faktor schnell an den Kern gelangt. Solche blockierten Lymphozytenkerne, die lymphozytären LE-bodies, sind wie die granulozytären LE-bodies deutlich phasendunkel (!) und fallen durch ihre vielgestaltige äußere Form auf (Bildserie XII, Seite 59).

Bei entsprechender Trocknungszeit und Zugabe des LE-Serums unter dem Mikroskop läßt sich auch das Entstehen der lymphozytären LE-bodies verfolgen. Der geschädigte Kern kann eine Zeitlang intrazellulär ungehindert degenerieren, d.h. solange quellen, bis er die Zellmembran lädiert. Erst dann wird er vom LE-Zell-Faktor blockiert. Diese lymphozytären LE-bodies, deren Kerne im Gegensatz zu Granulozytenkernen erst relativ spät mit dem LE-Zell-Faktor in Berührung kommen, müssen deshalb größer sein. In jedem Fall sind aber auch lymphozytäre LE-bodies, zu welchem Zeitpunkt sie auch immer blockiert worden sind, stets phasendunkel (Bildserie XIII, Seite 60)!

Ist die Trocknungszeit zu kurz, die Schädigung infolgedessen nicht ausreichend, bleibt die Zellmembran der Lymphozyten erhalten und ihre Kerne degenerieren wie im normalen Blut: Sie werden langsam homogen, pyknotisch, quellen - wobei sie stets heller werden - und lysieren schließlich intrazellulär! Solche Lymphozyten sind dann rund und ballonartig aufgebläht. Da ihre Zellmembran erhalten ist, der LE-Zell-Faktor nicht in die Zelle eindringen und den Kern nicht blockieren konnte, bleibt der Zellinhalt phasenhell (Bildserie XIV, Seite 61, vergleiche mit Bildserie IX, Seite 56)!

Um lymphozytäre LE-bodies zu erhalten, ist eine Trocknungszeit von 1 bis 2 Minuten zu kurz. Sie reicht, insbesondere bei den kleinen Lymphozyten, kaum aus, um eine sichtbare Kernschädigung zu erzielen. Wir haben in einigen Untersuchungsreihen die Präparate länger trocknen lassen, bevor

sie mit LE-Serum überschichtet wurden. Bei den Granulozyten war der Effekt stets unverändert und sofort nach der Präparatherstellung vorhanden. Die Anzahl der lymphozytären LE-bodies stieg aber mit zunehmender Trocknungszeit! Bei längerer Trocknungszeit werden also die Zellmembranen aller Lymphozyten - auch der kleinen - so geschädigt, daß bei Zugabe des LE-Serums der LE-Zell-Faktor schnell an die Kerne gelangt. Solche blockierten Lymphozytenkerne sind dann auch typisch phasendunkel! Um lymphozytäre LE-bodies zu gewinnen, muß man also zumindest einige Minuten über die von DAVIS und EISENSTEIN angegebene Trocknungszeit der Ausstriche hinausgehen.

Bei unseren Untersuchungen mit der Methode von DAVIS und EISENSTEIN zeigte sich immer wieder - bei Berücksichtigung der Eigenart dieser Methode -, daß Homogenisation, Quellung und Lyse der Kerne von Substratleukozyten LE-unspezifische Veränderungen sind. Daß es sich bei Kernquellungen im LE-Blut um LE-unspezifische Veränderungen, d.h. um normale degenerative Kernveränderungen handeln muß, haben bereits SNAPPER (39) und PASCHER (30) vermutet. PASCHER nahm außerdem an, daß es sich auch bei den sogenannten Prä-LE-Zellen um unspezifische Degenerationsformen handelt. In genügend geschädigten Substratzellen wird im LE-Blut die Kerndegeneration stets durch den LE-Zell-Faktor blockiert!

Das Entstehen der granulozytären LE-bodies haben auch RIFKIND und GODMAN in Mikrophotogrammen gezeigt. In Bildserien werden Kernhomogenisation und Kernquellung fälschlicherweise auf das Einwirken des LE-Zell-Faktors zurückgeführt und als Entwicklungsphasen bei der Entstehung der granulozytären LE-bodies gedeutet. Die blockierende Wirkung des LE-Zell-Faktors haben sie offensichtlich nicht erkannt.

Auch zum Entstehen der lymphozytären LE-bodies haben die Autoren Mikrophotogramme vorgelegt. Die jeweils letzten

Aufnahmen ihrer Bildserien wurden aber schon 3 bzw. 10 Minuten nach Zugabe des LE-Serums gemacht. Da es sich hier ganz offensichtlich um kleine Lymphozyten handelt, deren Zellmembran - wie unsere Untersuchungen ergeben haben - nach einer Schädigungszeit von 1 bis 2 Minuten erhalten bleiben, müssen deren Kerne intrazellulär degeneriert, d.h. lysiert sein. Dafür spricht auch die Tatsache, daß der Kerninhalt phasen h e l l ist! RIFKIND und GODMAN müssen hier also die Zellmembran für die Kernmembran gehalten haben! Nur so erklärt sich auch ihre, anhand dieser Bilder getroffene Feststellung, daß lymphozytäre LE-bodies - im Vergleich zu ihren Ausgangskernen und im Gegensatz zu den granulozytären LE-bodies - keine Phasendunkelheit aufweisen! Typische LE-bodies sind aber - ob granulozytärer oder lymphozytärer Herkunft, ob früher oder später vom LE-Zell-Faktor blockiert und auch bei kritischer Anwendung der Methode von DAVIS und EISENSTEIN - stets deutlich phasendunkel!

Wie oben ausgeführt, haben schon HARGRAVES und andere Autoren - unseres Wissens nur mit Ausnahme von MIESCHER (27, 28, 29) - angenommen, daß der LE-Zell-Faktor in die Zellen eindringt und mit den Kernen solcher Zellen dann reagiert! Das soll zu einem plötzlichen Verlust der Chromatinstrukturen in diesen Kernen, also zu einer Homogenisierung des Kerninhalts, und zu einer erheblichen Kernschwellung führen. Die quellenden Kerne sollen dann von innen her ein Aufbrechen der Zelle und das Freisetzen des Kernkörpers, die sogenannte LE-body-Bildung, bewirken! GODMAN und DEITCH (13) haben, in Übereinstimmung mit der angegebenen Morphogenese, in LE-bodies eine starke Zunahme des Eiweißgehaltes festgestellt. Interferometrische Messungen von RIFKIND und GODMAN (32) ergaben, daß in einem lymphozytären LE-body die Trockenmasse von $21{,}7 \pm 0{,}7 \times 10^{-12}$ gm auf $52{,}8 \times 10^{-12}$ gm, d.h. auf die zweieinhalbfache Menge des Ausgangskerns ansteigt!

Aus unseren phasenkontrastmikroskopischen Untersuchungen hat sich ergeben, daß bei der Zelldegeneration im Serum gesunder Versuchspersonen - sowohl nach mechanischer Zellschädigung als auch bei normaler Alterung der Zellen - die Zellkerne in der Kernlyse, dem letzten Stadium der Degeneration, ihre Phasendunkelheit völlig verlieren. Dabei nehmen sie an Fläche zu.

Im LE-Serum dagegen bleiben die Kerne der Substratzellen phasendunkel und verändern sich nach der Fixation des Antikörpers an den Kern in der Fläche nicht mehr! Ihre Degeneration ist also blockiert! Zwischen normal degenerierten, lysierten Zellkernen und solchen, die durch den LE-Zell-Faktor blockiert worden sind, müßten demnach Unterschiede im Trockenmassengehalt nachzuweisen sein. Wir haben, um das festzustellen, ebenfalls interferometrische Messungen vorgenommen.

Die Trockenmassenbestimmungen an den Zellkernen wurden mit einem Interferenzmikroskop nach JAMIN-LEBEDEFF (41) gemacht. RIFKIND und GODMAN haben ebenfalls dieses Verfahren angewendet. Auch wir sind der Meinung, daß es die optimale Methode zur Bestimmung der Trockenmasse in den Kernen von Blutzellen ist. Zur Orientierung soll hier nur kurz auf das Prinzip eingegangen werden. Für ausführlichere Informationen verweisen wir u.a. auf PILLER (39) und BARER (2).

Die Messungen werden im polarisierten Licht, bei einer Wellenlänge von λ = 546 Å d.i. 0,546 x 10^{-4} cm durchgeführt. Für unser Untersuchungsmaterial liegt das Absorptionsmaximum bei dieser Wellenlänge (2). Das Licht wird über eine doppeltbrechende Metallplatte geschickt und dabei in einen ordentlichen und einen außerordentlichen Strahl aufgespalten. Beide Strahlen besitzen dieselbe Energie und verlaufen phasengleich. Der eine Strahl dient als Meßstrahl, der andere als Vergleichs- oder Referenz-

strahl. Nur der Meßstrahl darf in der Objektebene durch die zu messende Struktur gehen, in unserem Fall durch den Zellkern. Der Referenzstrahl muß durch das Inkubationsmedium laufen. Der Meßstrahl wird in der Objektebene, in Abhängigkeit von der optischen Dichte des Materials, um einen bestimmten Gangunterschied verzögert. Anders ausgedrückt, der Referenzstrahl eilt, nach Durchlaufen der Objektebene, dem Meßstrahl voraus, so daß es zu einer Phasenverzögerung zwischen beiden Strahlen kommt. Die Phasenverzögerung beider Strahlen zueinander kann mittels Kompensation oder photometrisch gemessen werden. Wir haben die Senarmont-Kompensation vorgezogen, weil sie - obwohl mit größerem Zeitaufwand verbunden - dem photometrischen Verfahren gegenüber den Vorteil der größeren Genauigkeit besitzt. Das Prinzip der Kompensation ist der optische Wellenabgleich von Meß- und Referenzstrahl. Dieser Abgleich ist abhängig von der Dichte des zu messenden Objekts und geht als Winkelgrad $\measuredangle^{\circ}$ in die Berechnung der Trockenmasse ein. Die Trockenmasse berechnet sich dann nach der Formel (1) aus der Dichte und der Fläche des Meßobjekts (siehe Seite 2).

Weil für die interferenzmikroskopischen Messungen in unseren Vollblutpräparaten die Zellen zu dicht liegen, haben wir dafür Auswanderungspräparate verwendet, die weniger Zellen enthalten. Die Erythrozyten werden vor der Präparatherstellung mit dem Blutgerinnsel abgehoben. Eventuell noch vorhandene Reste werden vor dem Eindecken des Präparates mit autologem bzw. homologem Serum abgespült. Da aus dem Gerinnsel Granulozyten und Monozyten relativ bald auf den Objektträger abwandern und die Lymphozyten unter diesen Bedingungen im Gerinnsel bleiben, enthalten solche Auswanderungspräparate, von den wenigen Monozyten abgesehen, praktisch nur Granulozyten. Substratzellen sind wieder neutrophile Granulozyten. Die Zellschädigung erfolgt auch hier mechanisch beim Eindecken der Präparate.

Mit den Messungen wurde zum erstmöglichen Termin begonnen. In den überlebenden Zellen sind Messungen nicht möglich, solange die Kerne noch eine Chromatinzeichnung aufweisen. Erst wenn der Kerninhalt homogen war, konnte mit den Messungen begonnen werden. Bei normal alternden Zellen war das erst nach etwa 20 bis 30 Stunden, also im Stadium der Kernpyknose, der Fall. An mechanisch geschädigten Zellen dagegen waren schon nach 15 bis 30 Minuten die Kernsegmente zusammengeflossen, homogen-dunkel und pyknotisch. Die ersten Messungen konnten hier also viel früher durchgeführt werden als bei ungeschädigten, normal gealterten Zellen.

In LE-negativem Blut ergaben die Kerne, sowohl der mechanisch geschädigten als auch der normal degenerierten Zellen, in der Pyknose eine deutliche Zunahme der Phasenverzögerung und eine schwache Verringerung der Kernfläche. Wir führen das auf die Flüssigkeitsabgabe (Auspressen des Kernwassers) und das damit verbundene Abkugeln des Kerns in diesem Stadium zurück. Mit der folgenden Kernquellung wurde die Kernfläche wieder größer und parallel dazu wurde eine langsame aber ständige Verringerung der Phasenverzögerung registriert. Schließlich war zwischen Suspensionsmedium und Kern keine Differenz in der Phasenverzögerung, d.h. keine Trockenmassendifferenz mehr festzustellen. Das bedeutet einen fortschreitenden Verlust an Trockenmasse. Während anfänglich die Differenzen zwischen Suspensionsmedium und Zellkern deutlich und leicht festzustellen waren, wurde das mit zunehmender Kernquellung schwieriger. Bei den meisten Kernen bestand nach etwa 60 Stunden keine Differenz mehr zwischen Meß- und Referenzstrahl.

In LE-positivem Blut kam es zunächst auch während der Pyknose zu einer größeren Phasenverzögerung, verbunden mit einer vergleichsweise geringen Kernflächenabnahme, was eine entsprechende Zunahme der Trockenmasse des Kerns

bedeutet. Das war aber auch im Blut gesunder Probanden nachzuweisen und ist nicht LE-spezifisch. Mit einsetzender Kernquellung kam es dann auch an den freigesetzten Kernen im LE-Blut zunächst zu einer nur geringen Abnahme der Phasenverzögerung! Im LE-Blut bleibt dagegen aber - infolge der Kernblockade durch den LE-Zell-Faktor - eine deutliche Trockenmassendifferenz zwischen Kern und Suspensionsmedium erhalten!

In unseren Untersuchungen von 100 granulozytären LE-bodies waren die Mittelwerte für die Trockenmasse anfangs mit $19{,}6 \pm 1{,}4 \times 10^{-12}$ gm bis $20{,}2 \pm 0{,}8 \times 10^{-12}$ gm etwa gleich hoch. Die geringe Differenz liegt in der Fehlerbreite des Verfahrens. Während die Trockenmassendifferenz zwischen Kernen und normalem Blutplasma im Laufe der Untersuchungszeit auf Null absank, blieb dagegen im LE-Serum - nach einem geringen initialen Anstieg in der Kernpyknose und einem folgenden, ebenfalls nur geringgradigen Trockenmassenverlust bis zur Kernblockade - eine relativ hohe Trockenmassendifferenz über den gesamten Zeitraum der Untersuchung erhalten. Die absolute Höhe ist dabei unterschiedlich, da der Endwert für jeden Kern vom Zeitpunkt der Kernblockade durch den LE-Zell-Faktor abhängt.

RIFKIND und GODMAN sind zu anderen Ergebnissen gekommen. Da in ihren Präparaten die Kernsegmente der Granulozyten erhalten bleiben, waren interferometrische Messungen zur Trockenmassenbestimmung an Granulozytenkernen schwierig. Sie haben deshalb Lymphozyten als Substratzellen benutzt und dazu - wohl der höheren Zellkonzentration wegen - Blut von Leukämikern verwendet. Nach ihren eigenen Angaben eignen sich Lymphozytenkerne besonders für interferometrische Messungen, weil sie einen nahezu kreisrunden Kern haben. Anscheinend waren ihnen aber die Schwierigkeiten bei der Schädigung dieser Zellart unbekannt und die Folgen blieben unberücksichtigt. Die Trockenmasse der lymphozytären LE-bodies geben RIFKIND und GODMAN mit $52{,}8 \pm 2{,}5 \times 10^{-12}$ gm

an! Obwohl sie die lymphozytären LE-bodies als phasenhelle Kernmassen charakterisieren, liegen ihre Meßergebnisse etwa um das 2,5fache höher als die Trockenmasse ihrer Vergleichskerne im Normalserum, die sie mit $21,7 \pm 0,7 \times 10^{-12}$ gm angeben!

Unsere Untersuchungen haben ergeben, daß aus Lymphozyten freies Kernmaterial nur schwer zu gewinnen ist. Das hängt vom Schädigungsgrad und der Lymphozytenart (große, mittlere, kleine Lymphozyten) ab. Besonders bei den kleinen Lymphozyten muß die Zellschädigung relativ stark sein. Ihre Zellmembran bleibt sonst intakt, und die Kerne werden vom LE-Zell-Faktor nicht blockiert. Sie degenerieren intrazellulär und werden phasenhell! Aber auch intrazellulär degenerierende Lymphozytenkerne können vom LE-Zell-Faktor blockiert werden, sobald ihre Zellmembran lädiert ist. Sie sind dann zwar gequollen, aber deutlich phasendunkler als solche Kerne, deren umgebende Zellmembran erhalten ist. RIFKIND und GODMAN haben ihre Substratlymphozyten offensichtlich zu schwach geschädigt und infolgedessen die normale intrazelluläre Kerndegeneration als LE-spezifische Kernveränderung interpretiert. Aus ihren Mikrophotogrammen ergibt sich, daß es sich bei ihren Substratzellen um kleine Lymphozyten handelt, deren Kerne intrazellulär gequollen sind und deren Inhalt phasenhell ist! Wie wir gezeigt haben (Bildserie XIV), kann es sich deshalb also nur um intrazellulär degenerierte Lymphozytenkerne handeln und nicht, wie RIFKIND und GODMAN annahmen, um lymphozytäre LE-bodies. Unter der Voraussetzung, daß die Zellkerne ihrer gemessenen Zellen, die mit Atabrin geschädigt wurden, tatsächlich auch denen gleich sind, die auf den Photogrammen wiedergegeben sind und die nach DAVIS und EISENSTEIN durch Trocknen geschädigt wurden, bleibt es uns unerklärlich, wie es in diesen phasenhellen Zellkernen - im Vergleich zu den Ausgangskernen - zu einer Trockenmassenzunahme um das 2,5-fache gekommen ist. Diese intrazellulär degenerierten Zellkerne hatten keinen Kontakt mit dem LE-Zell-Faktor!

Wir haben mit unserer Methode aus Lymphozyten kein freies Kernmaterial gewinnen können, ohne das ganze Präparat mehr oder weniger unbrauchbar zu machen. Wenn aber dabei die Granulozyten mitgeschädigt werden, dann fehlen vitale Phagozyten, die zur LE-Zell-Bildung notwendig sind. Wenn aber keine LE-Zellen entstehen können, dann fehlt der letzte Beweis dafür, daß es sich um einen Lupus erythematodes handelt! Ähnliche, die Lymphozyten betreffende Erfahrungen haben auch ROHN und BOND (36) u.a. gemacht.

Wir haben unsere Untersuchungen an Granulozyten gemacht, weil sie in unseren Präparaten leicht, dabei aber dosiert zu schädigen sind und die degenerierenden Kernsegmente - sowohl bei normal alternden als auch bei mechanisch geschädigten Zellen - generell vor dem Pyknosestadium zu einem Kern zusammenfließen. An solchen Kernen sind interferometrische Messungen ebenso gut möglich wie an Lymphozytenkernen. Auch KOCH (20), LÜBBERS (21), UNDRITZ (40), BESSIS (4) und ENGEL (6) haben u.a. festgestellt, daß die Kernsegmente der Granulozyten im allgemeinen während der Degeneration zu einem Kern zusammenfließen. Unsere Messungen an granulozytären LE-bodies ergaben eine mittlere Trockenmasse von $20{,}25 \pm 0{,}86 \times 10^{-12}$ gm.

RIFKIND und GODMAN berichten auch kurz über Messungen an Kernsegmenten granulozytärer Herkunft, ohne allerdings Daten aus solchen Untersuchungen anzugeben. Die Trockenmasse ihrer granulozytären LE-bodies soll nur ein Drittel der Trockenmasse ihrer lymphozytären LE-bodies betragen, die mit $52{,}8 \times 10^{-12}$ gm angegeben wird. Sie müßte demnach für die granulozytären LE-bodies bei etwa $18{,}0 \times 10^{-12}$ gm liegen. Die starke Differenz in der Trockenmasse zwischen ihren granulozytären und lymphozytären LE-bodies erklären RIFKIND und GODMAN damit, daß die Kerne der neutrophilen Granulozyten, auch bei der Atabrin-Methode von LEE, ihre Segmentindividualität behalten und bei der LE-Transformation aus einem Granulozytenkern stets mehrere LE-bodies

werden. Da die Menge der neutrophilen Granulozyten normalerweise dreisegmentiert ist, nehmen sie an, daß aus dem Kern eines jeden neutrophilen Granulozyten drei LE-bodies werden. Mit anderen Worten, bei jedem granulozytären LE-body handelt es sich um einen 1/3-Kern. Zur Ermittlung der Trockenmasse eines ganzen Granulozytenkerns wird dieser Wert deshalb mit 3 multipliziert und entspricht dann etwa dem Wert, den RIFKIND und GODMAN an lymphozytären LE-bodies gemessen haben. Wobei aber nochmals darauf verwiesen werden muß, daß diese Meßdaten - wie die Autoren angeben - an LE-bodies erhoben worden sind, die phasenhell waren! Es besteht für uns kein Zweifel, daß diese resistente Blutzellart nur ungenügend geschädigt wurde und RIFKIND und GODMAN statt lymphozytärer LE-bodies intrazellulär degenerierte Lymphozytenkerne untersucht und gemessen haben. Nur so ist wohl die Differenz zwischen ihren und unseren Befunden als auch in der Aussage zur Genese der LE-bodies zu erklären.

Zusammenfassung:

1. Aus unseren phasenkontrastmikroskopischen Untersuchungen hat sich ergeben, daß Kernquellung und Kernlyse Phasen der Kerndegeneration sind. Das ergab sich sowohl an ungeschädigten als auch an mechanisch geschädigten Zellen im Blut gesunder Probanden.

2. LE-spezifisch dagegen ist die Blockade der Kerndegeneration, d.h. die Verhinderung der Kernlyse. Untersuchungen an langsam gealterten, degenerierenden Granulozyten im LE-Blut wie auch an degenerierenden LE-Zellen ergaben, daß die degenerative, intrazelluläre Kernquellung stets nach Läsion der Zellmembran, also bei Kontaktaufnahme mit dem LE-Zell-Faktor, beendet ist. LE-bodies, die aus mechanisch ad hoc geschädigten Zellen stammen, sind stets relativ klein, kompakt und phasendunkel, da sie praktisch im Moment der Schädigung blockiert wurden.

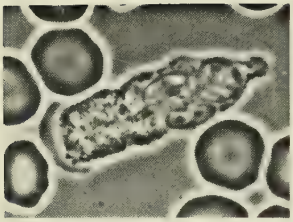
3. Kernquellungen auch im Blut von LE-Patienten sind immer Hinweis auf eine intrazellulär, d.h. innerhalb einer noch intakten Zellmembran ablaufende Kerndegeneration!

4. Untersuchungen mit der Methode von DAVIS und EISENSTEIN ergaben prinzipiell gleiche Ergebnisse, bei allerdings kritischen Feststellungen zur Methode selbst.

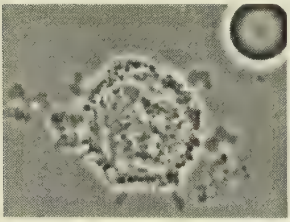
5. Interferometrische Messungen an Kernen normal gealterter Zellen sowie an granulozytären LE-bodies haben ergeben, daß degenerierende, also lysierte Kerne im gesunden Blut ständig an Dichte verlieren, d.h. an Trockenmasse verlieren. Durch den LE-Zell-Faktor blockierte Kerne verändern sich nicht; sie behalten ihre Dichte und damit ihre Trockenmasse bei! Je nach dem Zeitpunkt der Kernblockade ergeben sich unterschiedliche Trockenmassen. Der Zeitpunkt der Kernblockade hängt dabei vom Grad der Zellschädigung und von der Titerhöhe des LE-Zell-Faktors ab.

Bildserie I:

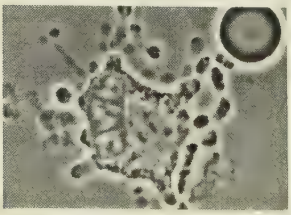
Degeneration ungeschädigter Zellen im Blut gesunder Versuchspersonen.



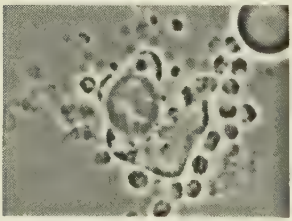
a. Ein ungeschädigter neutrophiler Granulozyt im Wanderungsstadium.



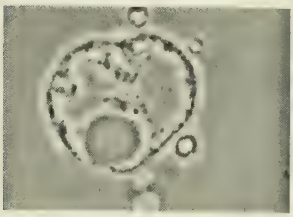
b. Multiple, noch reversible Zytoplasmaausläufer leiten die massive Zelldegeneration ein.



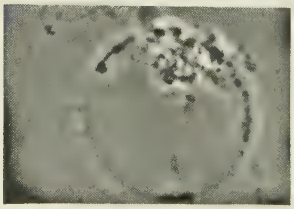
c. Die Zytoplasmaausläufer sind irreversibel geworden und schnüren sich nun ab. Die Kernsegmente sind zusammengeflossen.



d. Viele inselartige Zytoplasmaabschnürungen umgeben den Zellrest. Der Kern ist im Pyknosestadium.



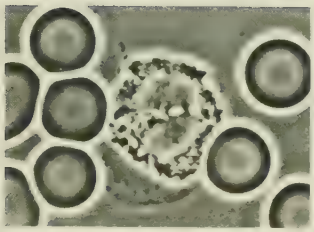
e. Die Zytoplasmainseln sind im Suspensionsmedium davongeschwommen; das Zytoplasma des Zellrestes hat sich verflüssigt. Der Kern ist pyknotisch.



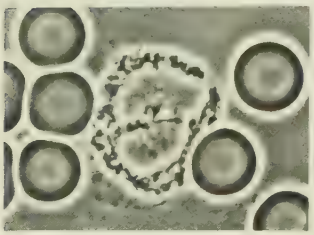
f. Etwa 60 Stunden nach der Präparatherstellung ist der Kern intrazellulär total lysiert. Der Zellrest ist dadurch ballonartig aufgebläht.

Bildserie II:

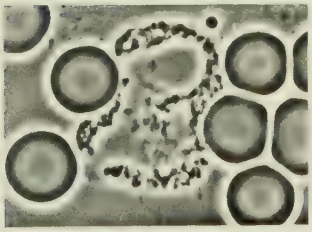
Degeneration geschädigter Zellen im Blut gesunder Versuchspersonen.



a. Am unteren Rand des neutrophilen Granulozyten hebt sich ein Rest der Zellmembran ab. Der Kern ist bereits über das Pyknosestadium hinaus und beginnt zu quellen.



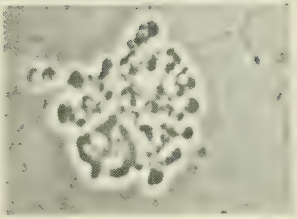
b. Die Kernquellung schreitet schnell voran.



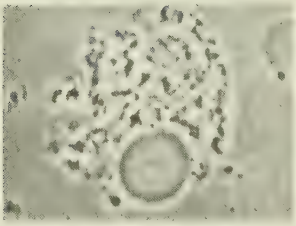
c. 30 Minuten nach der Präparatherstellung ist der Kern homogen und so stark gequollen, daß er die Protoplasmahülle auseinandergeschoben hat und in das Suspensionsmedium ragt.

Bildserie III:

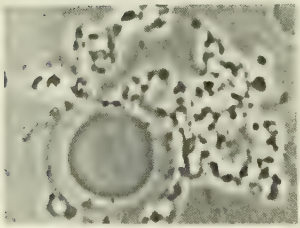
Degeneration ungeschädigter Zellen im LE-Blut.



a. Die Kernsegmente des neutrophilen Granulozyten sind zusammengeflossen; der Kern ist im Pyknosestadium.



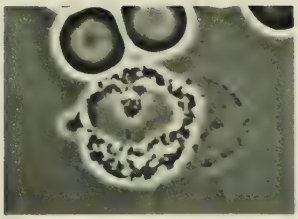
b. Der Kern ist homogen geworden und intrazellulär geringgradig gequollen. Er hat nun mit dem LE-Zell-Faktor-haltigen Blut Kontakt.



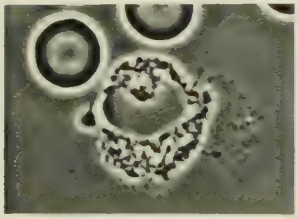
c. Der Kern ist nach 130 Stunden noch immer phasendunkel und vom LE-Zell-Faktor blockiert! Er ist lediglich etwas flacher geworden.

Bildserie IV:

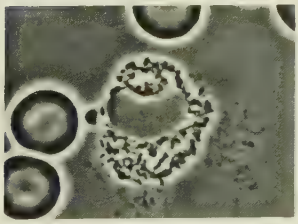
Degeneration geschädigter Zellen im LE-Blut.



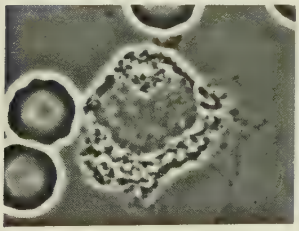
a. Die Kernsegmente des neutrophilen Granulozyten sind zusammengeflossen und dunkel-homogen. Rechts hebt sich blasenartig ein Rest der Zellmembran ab.



b. Das größer gewordene, helle Kernhäubchen, links am Kern, zeigt die fortgeschrittene Pyknose an.



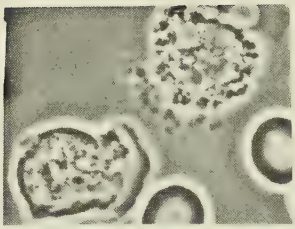
c. Mit der Wiederaufnahme des ausgepreßten Kernwassers (das Kernhäubchen ist verschwunden) hat die Kernquellung eingesetzt. Der blasenartige Rest der Zellmembran ist zerfallen.



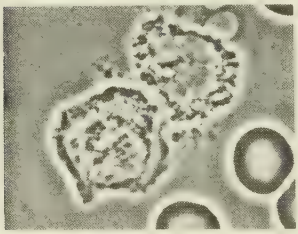
d. Mit der weiteren Flüssigkeitsaufnahme aus dem Suspensionsmedium hat der quellende Kern nun den LE-Zell-Faktor angesaugt. Der blockierte Kern ist grobschollig geworden und und hat sich abgeflacht.

Bildserie V:

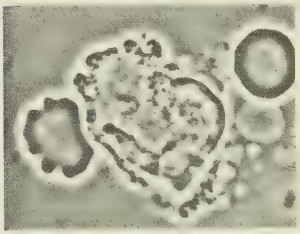
Entstehen einer LE-Zelle.

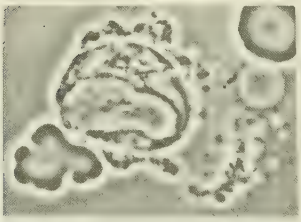


a. Der neutrophile Granulozyt wird vom blockierten Kern eines Substratleukozyten chemotaktisch angelockt.

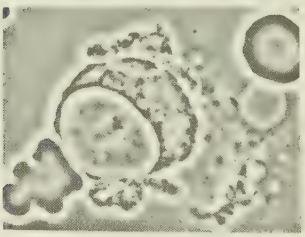


b. und c. Phagozytose des blockierten Kerns.





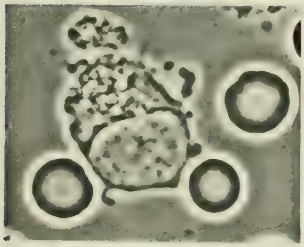
d. Das Phagosom ist intrazellulär gequollen und phasenhell geworden.



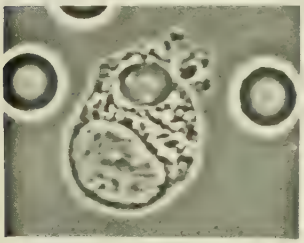
e. Die intrazelluläre Verdauung ist weiter fortgeschritten. Es ist eine klassische LE-Zelle entstanden.

Bildserie VI:

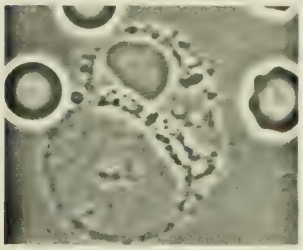
Degeneration einer LE-Zelle.



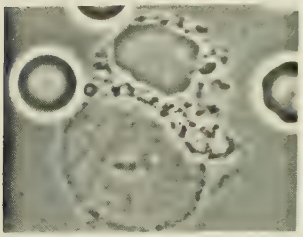
a. Diese LE-Zelle weist bereits eine starke Kernwandhyperchromasie und Zytolysosomen auf. Es haben sich gleichzeitig multiple, reversible Zytoplasmaausläufer gebildet.



b. Die Kernsegmente sind zusammengelaufen; der Kern ist pyknotisch. Die Vakuolisierung des Zytoplasmas ist weiter fortgeschritten. Das Phagosom ist unverändert.



c. Die Vakuolen haben sich entleert, das Zytoplasma ist lysiert, der Kern etwas und das Phagosom stark gequollen.



e. Der intrazellulär quellende Kern hat die Zellmembran lädiert und ist nun vom LE-Zell-Faktor blockiert!

R e c h e n b e i s p i e l

Meßergebnisse aus Präparat XXX Reihe VI

				$\measuredangle^{\circ}$	A
Meßwerte:	24 Std. nach Präparatherstellung	Zelle	1:	51,0	0,6
		"	2	49,5	0,7
		"	3	53,0	0,7
		"	4	51,0	0,6
		"	5	58,0	0,6
	34 Std. nach Präparatherstellung	Zelle	1:	3,5	2,0
		"	2	36,5	0,8
		"	3	47,0	0,7
		"	4	40,0	0,7
		"	5	47,0	0,8

				α°	A
Meßwerte:	48 Std. nach Präparatherstellung	Zelle	1:	3,0	2,1
		"	2	3,0	2,0
		"	3	5,0	1,9
		"	4	2,0	2,3
		"	5	4,0	2,2
	52 Std. nach Präparatherstellung	Zelle	1:	1,5	4,7
		"	2	1,0	4,2
		"	3	2,5	4,0
		"	4	1,5	6,0
		"	5	2,5	5,3

				4°	A
Meßwerte:	72 Std. nach Präparatherstellung	Zelle	1:	1,5	4,7
		"	2	2,0	3,8
		"	3	2,0	4,3
		"	4	0,0	
		"	5	0,0	
	94 Std. nach Präparatherstellung	Zelle	1:	0,5	4,6
		"	2	0,0	
		"	3	1,0	4,2
		"	4	0,0	
		"	5	0,0	

Tabelle 1

$$\Phi = \frac{\sphericalangle^{\circ} \times \lambda}{180^{\circ}} \qquad M = \frac{\Phi \times A}{\alpha \times 100}$$

24 Std. nach Präparatherstellung

Zelle 1	$\Phi = \frac{51,0 \times 0,546 \times 10^{-4}}{180^{\circ}} = 0,155 \times 10^{-4}$ cm	$M = \frac{0,155 \times 10^{-4} \times 0,6 \times 42,25 \times 10^{-8}}{0,0018 \times 100} = 21,8 \times 10^{-12}$ gm
Zelle 2	$\Phi = \frac{49,5 \times 0,546 \times 10^{-4}}{180^{\circ}} = 0,150 \times 10^{-4}$ cm	$M = \frac{0,15 \times 10^{-4} \times 0,7 \times 42,25 \times 10^{-8}}{0,0018 \times 100} = 24,6 \times 10^{-12}$ gm
Zelle 3	$\Phi = \frac{53,0 \times 0,546 \times 10^{-4}}{180^{\circ}} = 0,161 \times 10^{-4}$ cm	$M = \frac{0,161 \times 10^{-4} \times 0,7 \times 42,25 \times 10^{-8}}{0,0018 \times 100} = 26,5 \times 10^{-12}$ gm
Zelle 4	$\Phi = \frac{51,0 \times 0,546 \times 10^{-4}}{180^{\circ}} = 0,155 \times 10^{-4}$ cm	$M = \frac{0,155 \times 10^{-4} \times 0,6 \times 42,25 \times 10^{-8}}{0,0018 \times 100} = 21,8 \times 10^{-12}$ gm
Zelle 5	$\Phi = \frac{58,0 \times 0,546 \times 10^{-4}}{180^{\circ}} = 0,176 \times 10^{-4}$ cm	$M = \frac{0,176 \times 10^{-4} \times 0,6 \times 42,25 \times 10^{-8}}{0,0018 \times 100} = 24,8 \times 10^{-12}$ gm

$$\Phi = \frac{\alpha^{\circ} \times \lambda}{180^{\circ}} \qquad M = \frac{\Phi \times A}{\alpha \times 100}$$

34 Std. nach Präparatherstellung

Zelle 1 $\Phi = \frac{3{,}5 \times 0{,}546 \times 10^{-4}}{180^{\circ}} = 0{,}011 \times 10^{-4}$ cm $\quad M = \frac{0{,}011 \times 10^{-4} \times 2{,}0 \times 42{,}25 \times 10^{-8}}{0{,}0018 \times 100} = 5{,}2 \times 10^{-12}$ gm

Zelle 2 $\Phi = \frac{36{,}5 \times 0{,}546 \times 10^{-4}}{180^{\circ}} = 0{,}011 \times 10^{-4}$ cm $\quad M = \frac{0{,}011 \times 10^{-4} \times 0{,}8 \times 42{,}25 \times 10^{-8}}{0{,}0018 \times 100} = 20{,}8 \times 10^{-12}$ gm

Zelle 3 $\Phi = \frac{47{,}0 \times 0{,}546 \times 10^{-4}}{180^{\circ}} = 0{,}143 \times 10^{-4}$ cm $\quad M = \frac{0{,}143 \times 10^{-4} \times 0{,}7 \times 42{,}25 \times 10^{-8}}{0{,}0018 \times 100} = 23{,}5 \times 10^{-12}$ gm

Zelle 4 $\Phi = \frac{40{,}0 \times 0{,}546 \times 10^{-4}}{180^{\circ}} = 0{,}121 \times 10^{-4}$ cm $\quad M = \frac{0{,}121 \times 10^{-4} \times 0{,}7 \times 42{,}25 \times 10^{-8}}{0{,}0018 \times 100} = 19{,}9 \times 10^{-12}$ gm

Zelle 5 $\Phi = \frac{47{,}0 \times 0{,}546 \times 10^{-4}}{180^{\circ}} = 0{,}143 \times 10^{-4}$ cm $\quad M = \frac{0{,}143 \times 10^{-4} \times 0{,}6 \times 42{,}25 \times 10^{-8}}{0{,}0018 \times 100} = 20{,}1 \times 10^{-12}$ gm

$$\Phi = \frac{\alpha^{\circ} \times \lambda}{180^{\circ}}$$

$$M = \frac{\Phi \times A}{\alpha \times 100}$$

48 Std. nach Präparatherstellung

Zelle 1 $\Phi = \frac{3{,}0 \times 0{,}546 \times 10^{-4}}{180^{\circ}} = 0{,}009 \times 10^{-4}$ cm $M = \frac{0{,}009 \times 10^{-4} \times 2{,}1 \times 42{,}25 \times 10^{-8}}{0{,}0018 \times 100} = 4{,}4 \times 10^{-12}$ gm

Zelle 2 $\Phi = \frac{3{,}0 \times 0{,}546 \times 10^{-4}}{180^{\circ}} = 0{,}009 \times 10^{-4}$ cm $M = \frac{0{,}009 \times 10^{-4} \times 2{,}0 \times 42{,}25 \times 10^{-8}}{0{,}0018 \times 100} = 4{,}2 \times 10^{-12}$ gm

Zelle 3 $\Phi = \frac{5{,}0 \times 0{,}546 \times 10^{-4}}{180^{\circ}} = 0{,}015 \times 10^{-4}$ cm $M = \frac{0{,}015 \times 10^{-4} \times 1{,}9 \times 42{,}25 \times 10^{-8}}{0{,}0018 \times 100} = 6{,}7 \times 10^{-12}$ gm

Zelle 4 $\Phi = \frac{2{,}0 \times 0{,}546 \times 10^{-4}}{180^{\circ}} = 0{,}006 \times 10^{-4}$ cm $M = \frac{0{,}006 \times 10^{-4} \times 2{,}3 \times 42{,}25 \times 10^{-8}}{0{,}0018 \times 100} = 3{,}2 \times 10^{-12}$ gm

Zelle 5 $\Phi = \frac{4{,}0 \times 0{,}546 \times 10^{-4}}{180^{\circ}} = 0{,}012 \times 10^{-4}$ cm $M = \frac{0{,}012 \times 10^{-4} \times 2{,}2 \times 42{,}25 \times 10^{-8}}{0{,}0018 \times 100} = 6{,}2 \times 10^{-12}$ gm

$\Phi = \frac{\alpha^{\circ} \times \lambda}{180^{\circ}}$ $\qquad$ $M = \frac{\Phi \times A}{\alpha \times 100}$

72 Std. nach Präparatherstellung

Zelle 1 $\Phi = \frac{1,5 \times 0,546 \times 10^{-4}}{180^{\circ}} = 0,005 \times 10^{-4}$ cm $\qquad$ $M = \frac{0,005 \times 10^{-4} \times 4,7 \times 42,25 \times 10^{-8}}{0,0018 \times 100} = 5,5 \times 10^{-12}$ gm

Zelle 2 $\Phi = \frac{2,0 \times 0,546 \times 10^{-4}}{180^{\circ}} = 0,006 \times 10^{-4}$ cm $\qquad$ $M = \frac{0,006 \times 10^{-4} \times 3,8 \times 42,25 \times 10^{-8}}{0,0018 \times 100} = 5,4 \times 10^{-12}$ gm

Zelle 3 $\Phi = \frac{2,0 \times 0,546 \times 10^{-4}}{180^{\circ}} = 0,006 \times 10^{-4}$ cm $\qquad$ $M = \frac{0,006 \times 10^{-4} \times 4,3 \times 42,25 \times 10^{-8}}{0,0018 \times 100} = 6,1 \times 10^{-12}$ gm

Zelle 4 $\Phi = 0$ $\qquad$ $M = 0$

Zelle 5 $\Phi = 0$ $\qquad$ $M = 0$

$\Phi = \frac{\alpha^{\circ} \times \lambda}{180^{\circ}}$ $\qquad$ $M = \frac{\Phi \times A}{a \times 100}$

94 Std. nach Präparatherstellung

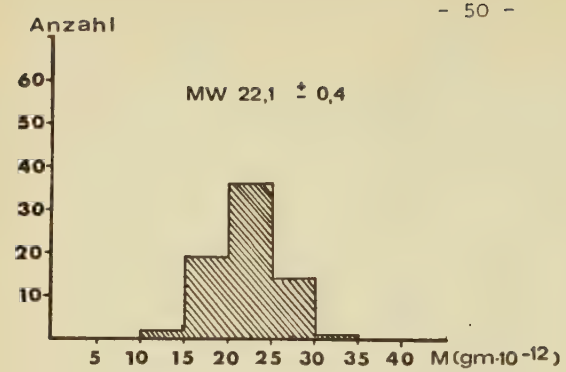
Zelle 1 $\Phi = \frac{0,5 \times 0,546 \times 10^{-4}}{180^{\circ}} = 0,002 \times 10^{-4}$ cm $\qquad$ $M = \frac{0,002 \times 10^{-4} \times 4,6 \times 42,25 \times 10^{-8}}{0,0018 \times 100} = 2,2 \times 10^{-12}$ gm

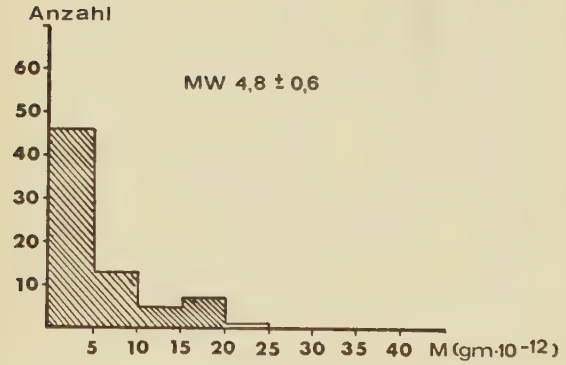
Zelle 2 $\Phi = 0$ $\qquad$ $M = 0$

Zelle 3 $\Phi = \frac{1,0 \times 0,546 \times 10^{-4}}{180^{\circ}} = 0,003 \times 10^{-4}$ cm $\qquad$ $M = \frac{0,003 \times 10^{-4} \times 4,2 \times 42,25 \times 10^{-8}}{0,0018 \times 100} = 2,9 \times 10^{-12}$ gm

Zelle 4 $\Phi = 0$ $\qquad$ $M = 0$

Zelle 5 $\Phi = 0$ $\qquad$ $M = 0$





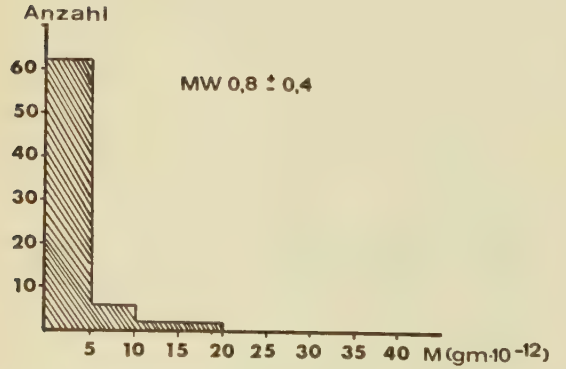
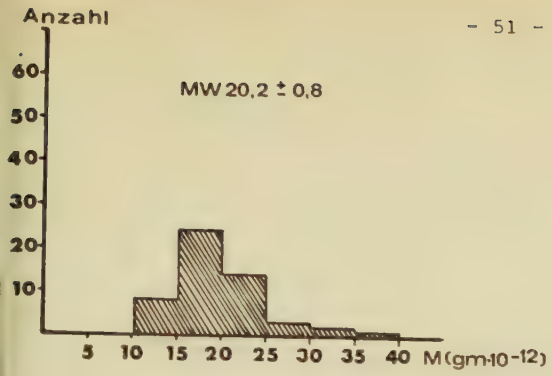


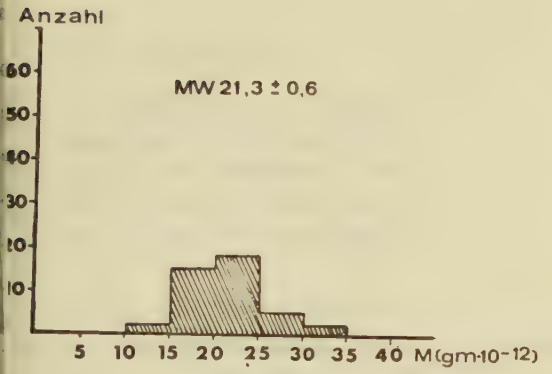
Diagramm I:

Darstellung der Ergebnisse interferometrischer Messungen an degenerierenden Kernen ungeschädigter neutrophiler Granulozyten (Substratzellen) in normalem Serum.

Aufgetragen ist die Anzahl der untersuchten Zellkerne gegen die Trockenmasse in gm. Die Meßergebnisse sind nach 24, 48 und 72 Stunden willkürlich zusammengefaßt und in den 3 Diagrammen wiedergegeben. MW ist der jeweilige Mittelwert der dargestellten Ergebnisse mit Angabe der Fehlerbreite.

In normalem Serum kommt es während des gesamten Untersuchungszeitraumes zu einem kontinuierlichen Verlust an Trockenmasse. Sie ist nach 72 Stunden mit $0,8 \pm 0,4 \times 10^{-12}$ gm praktisch gleich Null.





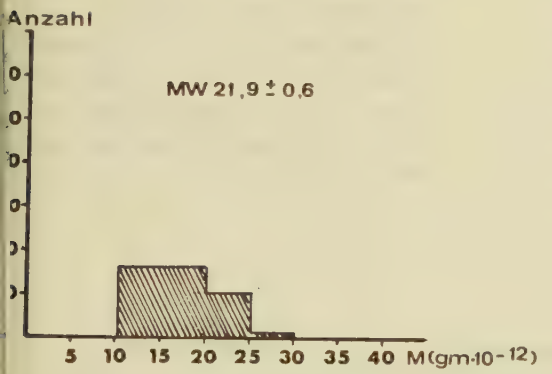
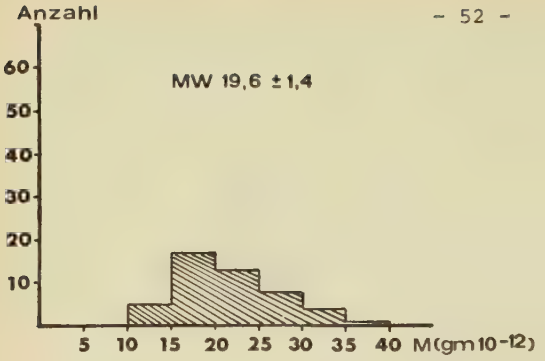


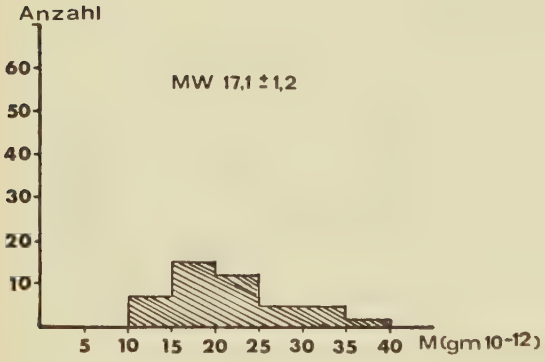
Diagramm II:

Darstellung der Ergebnisse interferometrischer Messungen an degenerierenden Kernen mechanisch geschädigter neutrophiler Granulozyten (Substratzellen) in LE-Serum.

Aufgetragen ist die Anzahl der untersuchten Zellkerne gegen die Trockenmasse in gm. Die Meßergebnisse sind nach 24, 48 und 72 Stunden willkürlich zusammengefaßt und in den 3 Diagrammen wiedergegeben. MW ist der jeweilige Mittelwert der dargestellten Ergebnisse mit Angabe der Fehlerbreite.

Im LE-Serum bleibt die Trockenmasse während des gesamten Untersuchungszeitraumes praktisch konstant und liegt bei der Mehrzahl der Zellkerne um $21,9 \pm 0,6 \times 10^{-12}$gm.





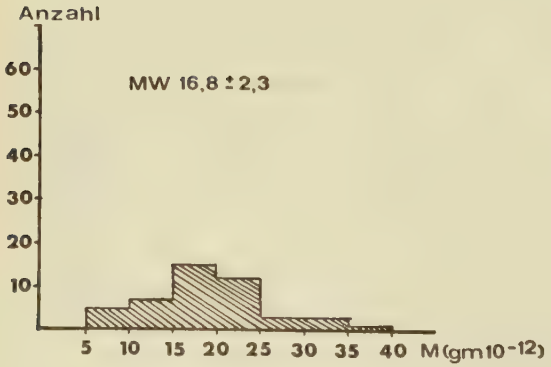
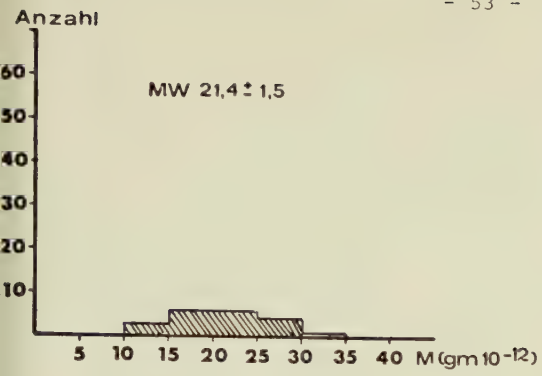


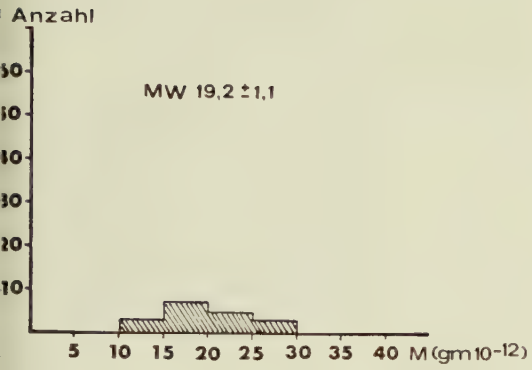
Diagramm III:

Darstellung der Ergebnisse interferometrischer Messungen an degenerierenden Kernen ungeschädigter neutrophiler Granulozyten (Substratzellen) in LE-Serum.

Aufgetragen ist die Anzahl der untersuchten Zellkerne gegen die Trockenmasse in gm. Die Meßergebnisse sind nach 24, 48 und 72 Stunden willkürlich zusammengefaßt und in den 3 Diagrammen wiedergegeben. MW ist der jeweilige Mittelwert der dargestellten Ergebnisse mit Angabe der Fehlerbreite.

Nach einem anfänglich geringgradigen Abfall bleibt die Trockenmasse dann ab der Kernblockade im LE-Serum während des weiteren Untersuchungszeitraumes mit $16,8 \pm 2,3 \times 10^{-12}$ gm praktisch konstant.





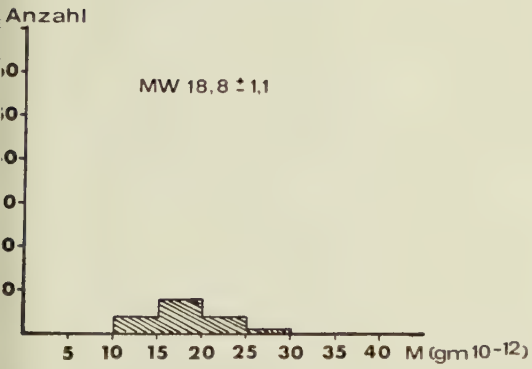


Diagramm IV:

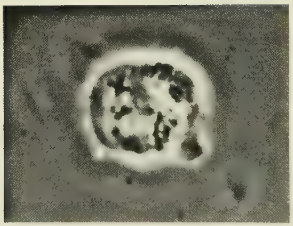
Darstellung der Ergebnisse interferometrischer Messungen an degenerierenden Kernen ungeschädigter neutrophiler Granulozyten (Substratzellen) in LE-Serum.

Aufgetragen ist die Anzahl der untersuchten Zellkerne gegen die Trockenmasse in gm. Die Meßergebnisse sind nach 24, 48 und 72 Stunden willkürlich zusammengefaßt und in den 3 Diagrammen wiedergegeben. MW ist der jeweilige Mittelwert der dargestellten Ergebnisse mit der Angabe der Fehlerbreite.

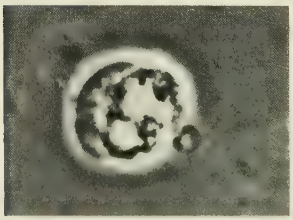
Nach einem geringgradigen Abfall, während der intrazellulären Degeneration, bleibt die Trockenmasse dann über den weiteren Untersuchungszeitraum mit $18,8 \pm 1,1 \times 10^{-12}$gm praktisch konstant.

Bildserie VII:

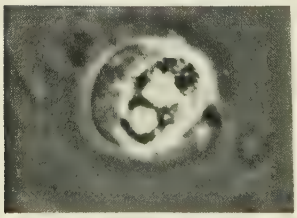
Methode Davis und Eisenstein,
Trocknungszeit 1 Minute,
Kontrollpräparat mit LE-negativem
Serum.



a. 1 Minute nach Präparatherstellung. Ein Granulozyt nach Zugabe des Serums. Die Kernsegmente sind homogen und werden hell. Nach links hebt sich blasenartig ein Rest Zellmembran mit Cytoplasma ab.



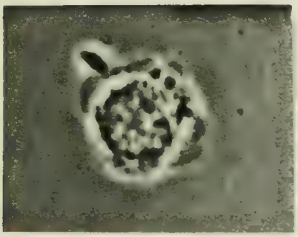
b. 3 Minuten nach Präparatherstellung. Die allgemeine Zellyse hat sich verstärkt; die Kernsegmente sind heller geworden, die Zytoplasmablase hat sich vergrößert.



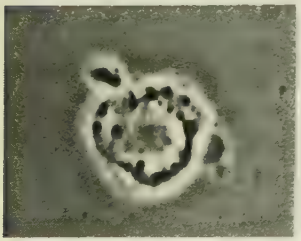
c. 10 Minuten nach Präparatherstellung. Die lysierten Kernsegmente haben helle, wie ausgestanzt wirkende Löcher hinterlassen, die sich nicht verändern. Der Rest der Zellmembran bleibt noch eine zeitlang erhalten. Das darin enthaltene Zytoplasma hat sich verflüssigt.

Bildserie VIII:

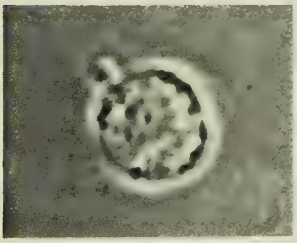
Methode Davis und Eisenstein, Trocknungszeit 2 Minuten, Kontrollpräparat mit LE-negativem Serum.



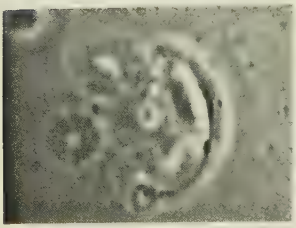
a. 1 Minute nach Präparatherstellung. Der Kern des großen Lymphozyten ist nach Zugabe des Serums noch deutlich strukturiert.



b. 3 Minuten nach Präparatherstellung. Der Zellkern wird nun homogen und quillt.



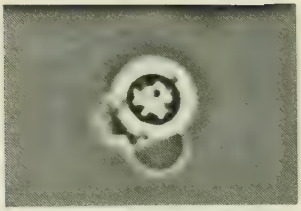
c. 10 Minuten nach Präparatherstellung. Der Kern ist intrazellulär lysiert. Der Kerninhalt ist dabei phasenhell geworden und bläht die Zellmembran ballonartig auf.



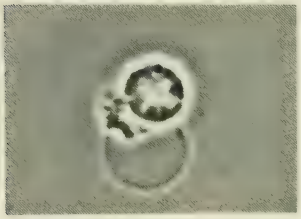
d. 17 Minuten nach Präparatherstellung. Die Zellmembran ist geplatzt.

Bildserie IX:

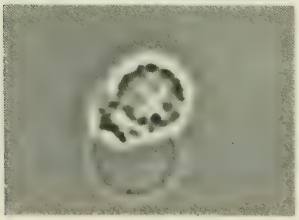
Methode nach Davis und Eisenstein,
Trocknungszeit 2 Minuten,
Kontrollpräparat mit LE-negativem Serum.



a. 1 Minute nach Präparatherstellung.
An diesem kleinen Lymphozyten imponiert die starke Kernwandhyperchromasie. Nach unten hebt sich blasenartig ein Teil der Zellmebran ab.



b. 20 Minuten nach Präparatherstellung.
Der Kern beginnt homogen zu werden und zu quellen. Die Membranabhebung ist größer geworden.



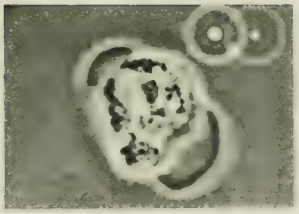
c. 30 Minuten nach Präparatherstellung.
Der Kerninhalt ist nun fast homogen.

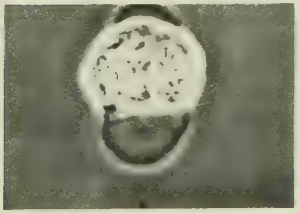
d. 50 Minuten nach Präparatherstellung.
Der Kern lysiert intrazellulär und bläht dabei die Zellmembran auf.

e. 60 Minuten nach Präparatherstellung.
Die Zellmembran ist noch immer erhalten! Abgesehen von der Granula ist der Zellinhalt nun homogen und phasenhell.

Bildserie X·

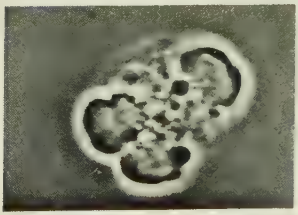
Methode nach Davis und Eisenstein,
Trockenzeit 2 Minuten,
Überschichtet mit LE-Serum.





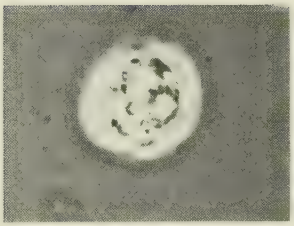
a. - c. 2, 5 und 10 Minuten nach Präparatherstellung.

Verschiedene, für diese Methode typische, aus den geschädigten Zellen herausgequollene, phasendunkle LE-bodies granulozytärer Herkunft.

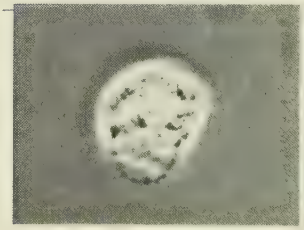


Bildserie XI:

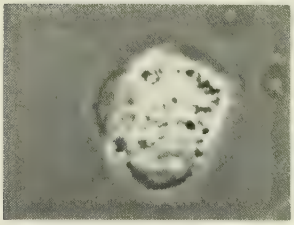
Methode nach Davis und Eisenstein,
Trocknungszeit 1 Minute,
Überschichtet mit LE-Serum.



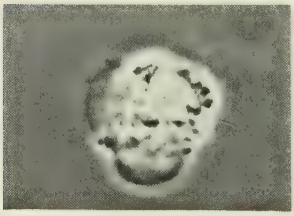
a. 30 Sekunden nach Präparatherstellung. Ein abgekugelter Granulozyt, kurz nach Zugabe des LE-Serums.



b. 1 Minute nach Präparatherstellung. Nach unten hebt sich blasenartig Zellmembran mit flüssigem, hellem Inhalt ab.



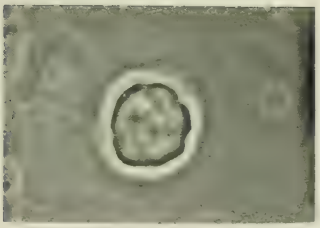
c. 3 Minuten nach Präparatherstellung. Der intrazellulär degenerierende Kern hat die Zellmembran lädiert und ist mit dem Suspensionsmedium in Kontakt. Nach links hat sich erneut Zellmembran abgehoben.

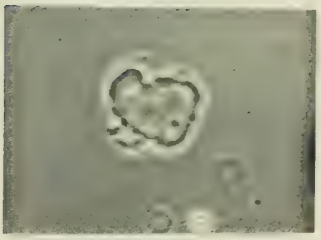


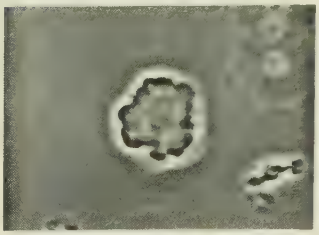
d. 10 Minuten nach Präparatherstellung. Es ist nun ein LE-body, der phasendunkel aus der Zelle ragt und sich nicht weiter verändert.

Bildserie XII:

Methode nach Davis und Eisenstein,
Trockenzeit 6 Minuten,
überschichtet mit LE-Serum.



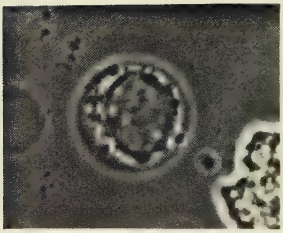




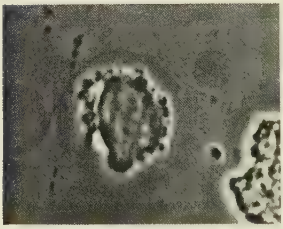
a. - c. 3, 5 und 10 Minuten nach Präparatherstellung.
Infolge der längeren Trocknungszeit sind die Zellmembranen so stark geschädigt, daß der LE-Zell-Faktor die Kerne relativ früh blockiert hat. Sie sind nur wenig gequollen, phasendunkel und vielgestaltig. Diese lymphozytären LE-bodies verändern sich nicht mehr.

Bildserie XIII:

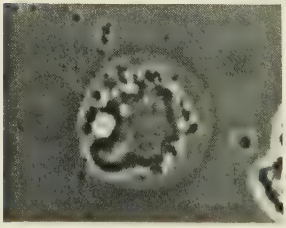
Methode nach Davis und Eisenstein,
Trocknungszeit 1 Minute,
Überschichtet mit LE-Serum.



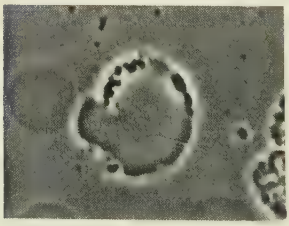
a. 10 Minuten nach Präparatherstellung. Ein großer Lymphozyt, dessen Kern noch deutlich strukturiert ist.



b. 20 Minuten nach Präparatherstellung. Die Zelle degeneriert; der Kern wird pyknotisch (Kernhäubchen links !), das Zytoplasma wird hell.



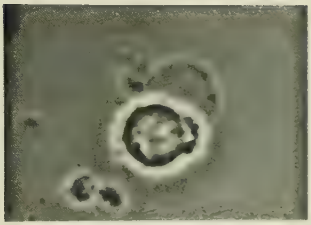
c. 30 Minuten nach Präparatherstellung. Die Pyknose ist fortgeschritten, der Kern ist fast homogen.



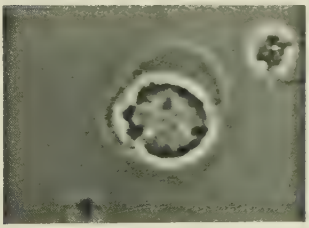
d. 60 Minuten nach Präparatherstellung. Der intrazellulär quellende Kern hat die Zellmembran lädiert. Es ist ein lymphozytärer LE-body entstanden. Infolge der intrazellulären Degeneration ist er relativ groß.

Bildserie XIV:

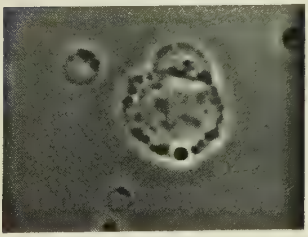
Methode Davis und Eisenstein,
Trocknungszeit 2 Minuten,
Überschichtet mit LE-Serum.



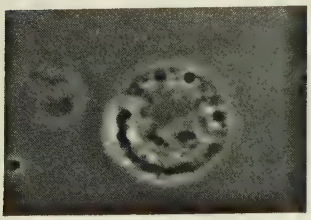
a. 10 Minuten nach Präparatherstellung. Ein kleiner Lymphozyt mit noch dunklem Kern. Nach oben hebt sich blasenartig ein Teil der Zellmembran ab.



b. 15 Minuten nach Präparatherstellung. Der Kern degeneriert intrazellulär relativ schnell.



c. 20 Minuten nach Präparatherstellung. Er ist weiter gequollen und dabei phasenhell geworden.



d. 45 Minuten nach Präparatherstellung. Die Zellmembran ist noch erhalten. Der Kern ist lysiert und weiterhin phasenhell! Es ist kein LE-body entstanden.

= Literaturverzeichnis =

1. Antognetti, L. and A. Marmont: Rheumatoid Arthritis and the LE factor. Rheumatoid Arthritis, Documenta Geigy, Acta rheumatologica, Special Issue, Basel. 1962, S. 86 - 102.

2. Barer, R.: Phase Contrast and Interference Microscopy. Cytology, c: Interference Microscopy. Analytical Cytology C.R. Mellors N.Y., The Blakistan Co. 1955, S. 31 - 53.

3. Beickert, A.: Das Lupus erythematodes-Phänomen und die antinukleären Faktoren. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena. 1963, S. 11 - 88.

4. Bessis, M.C.: Mort d'une Cellule, Analyse d'un Film en Contraste de Phase. Film W 387 des Inst. Wiss. Film, Göttingen 1956.

5. Davis, B.J. and R. Eisenstein: A Simple, Rapid Technique for the Demonstration of L.E. Cells. R.J. Mt. Sinai Hosp. 24 (1957), S. 580 - 584.

6. Engel, H.-J., Regina Schütz und E. Zerbst: Die Blutzellen im Vitalpräparat. Wiss. Film C 851 des Inst. Wiss. Film, Göttingen 1962.

7. Engel, H.-J.: Ein Beitrag zum Bild des Leukozyten und seine filmische Darstellung. Res. Film Vol. 5 No. 5 (1966), S. 461 - 472.

8. Engel, H.-J. und Regina Schütz: Genese des LE-Zellphänomens. Vitalbeobachtungen im peripheren Blut. Wiss. Film D 948 des Inst. Wiss. Film, Göttingen 1968.

9. Engel, H.-J.: Untersuchungen zur LE-Zellgenese im Supravitalpräparat. Blut 17 (1968), S. 93 - 110.

10. Engel, H.-J.: Leukozyten (Rana esculenta) Emigration. Wiss. Film E 450 des Inst. Wiss. Film, Göttingen 1962.

11. Franke, H.: Phasenkontrast-Haematologie, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1954.

12. German, J.L. and M. Huber: Frozen Cells as Nuclear Source in the LE Cell Phenomenon. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 97 (1958), S. 221 - 223.

13. Godman, G.C. and A.D. Deitch: A Cytochemical Study of the LE Bodies of Systemic Lupus Erythematosus. J. Exp. Med. 106 (1957), S. 575 - 605.

14. Hargraves, M.M., H. Richmond and R. Morton: Presentation of two Bone Marrow Elements: The Tart Cell and the LE Cell. Proc. Staff Meet. Mayo Clin. 23 (1948), S. 25 - 28.

15. Hargraves, M.M., H. Richmond and R. Morton: Production in vitro of the LE Cell Phenomenon: Use of Normal Bone Marrow Elements and Blood Plasma from Patients with Acute Disseminated Lupus Erythematosus. Proc. Staff Meet. Mayo Clin. 24 (1949), S. 234 - 237.

16. Hargraves, M.M.: Discovery of the LE Cell and its Morphology. Proc. Staff Meet. Mayo Clin. 44 (1969), S. 579 - 599.

17. Haselmann, H.: Beiträge zur Phasenkontrastmikroskopie. Mikroskopie 5 (1950), S. 214 - 217.

18. Inderbitzen, T.: Das Lupus erythematodes-Zell-Phänomen. Röntgen- und Laborpraxis 6 (1953), S. 189 - 192.

19. Inderbitzen, T.: Weitere Untersuchungen über die willkürliche Erzeugung von Lupus-erythematodes-Zellen im normalen Blut. Schweiz. Med. Wschr. 21 (1952), S. 561 - 565.

20. Koch, E.: Über Leukozytäre Abbauzellen. Klin. Wschr. 29 (1951), S. 474 - 476.

21. Koch, E. und P. Lübbers: Über das Auftreten leukozytärer Abbauformen im peripheren Capillarblut bei entzündlichen Erkrankungen. Dtsch. Arch. klin. Med. 196 (1949), S. 268 - 278.

22. Lee, S.L.: Zitiert bei Rifkind und Godman (32).

23. Marmont, A.: Beobachtungen über das sogenannte LE-Phänomen. Schweiz. Med. Wschr. 43 (1952), S. 25 - 30.

24. Marmont, A., M.A. Piuma und G. Capponi: Eine einfache empfindliche und sichere Methode zur Auslösung des LE-Phänomens durch mechanische Schädigung der Leukozyten des Substrates, mit besonderer Berücksichtigung der Befunde bei Lupus erythematodes und Polyarthritis chronica. Schweiz. Med. Wschr. 87 (1957), S. 1253 - 1258.

25. Marmont, A.: Nucleolytic Phagocytosis (LE Cell Phenomenon) in Systemic Lupus Erythematosus, Rheumatoid Arthritis and Systemic Scleroderma; with a Note on the Cytomorphologic Aspects of the Phenomenon as Observed by Fluorescence Microscopy and a Fluorochrome (AO). Immunopathology, 1st International Symposium Basle/Seelisberg, Eds. P. Grabar and P. Miescher. Schwabe, Basle, 1959, S. 479 - 484.

26. Miescher, P.: Immunologie der Autosensibilisierung. Schweiz. Med. Wschr. 87 (1957), S. 426 - 430.

27. Miescher, P. und K.O. Vorlaender: Der viscerale Erythematodes. Immunpathologie in Klinik und Forschung, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1961, S. 501 - 539.

28. Miescher, P. et M. Fauconnet: L'absorption du Facteur LE par des Noyaux Cellulaires Isolés. Experientia (Basel) 10 (1954), S. 252.

29. Miescher, P. and R. Strässle: The Pathogenesis of Visceral Lupus Erythematosus as Reflected in the Sero-Reactions. Immunopathology, 1st International Symposium, Basel/Seelisberg 1958, Eds. P. Grabar and P. Miescher. Schwabe, Basel 1959, S. 454 - 468.

30. Pascher, F. and A. Borota: Critique of the Concept of the Pre-LE Cell. Blood 13 (1958), S. 376 - 381.

31. Piller, H.: Durchlicht Interferenzmikroskopie nach Jamin-Lebedeff, Zeiss Info. 2 (1962), S. 309 - 312.

32. Rifkind, R. and G.C. Godman: Phase Contrast and Interferometric Microscopy of the LE Cell Phenomenon. J. Exp. Med. 106 (1957), S. 607 - 615.

33. Robineaux, R., D. Buffe et R. Kourilski: Recherches sur la Formation de la Cellule de Hargraves. Ann. Inst. Pasteur, Paris 91 (1956), S. 109 - 112.

34. Robineaux, R.: Etude Microcinématographique en Contraste de Phase du Méchanisme du Phénomène LE. Immunopathology, 1st International Symposium, Basel/Seelisberg 1958, Eds. P. Grabar and P. Miescher. Schwabe, Basel 1959, S. 416 - 438.

35. Robineaux, R.: Formation de la Cellule LE. Wiss. Film W 710 des Inst. Wiss. Film, Göttingen 1956.

36. Rohn, R.J. and W.H. Bond: Some Supravital Observations on the LE Phenomenon. Amer. J. Med. 12 (1952), S. 422 - 432.

37. Ruhl, E. und R. Juchens: Zum Nachweis der Lupuserythematodes-Zelle. Med. Klin. 61 (1966), S. 1106 - 1107.

38. Schönenberg, H.: Phasenkontrastmikroskopische Untersuchungen in der Hämatologie. Mschr. Kinderheilkde. 99 (1951), S. 421 - 425.

39. Snapper, I. and D.J. Nathan: Formation of Large Number of Lupus Cells from one Drop of Peripheral Blood. J. Invest. Derm. Baltimore 24 (1955), S. 473- 484.

40. Undritz, E.: Über das Vorkommen von Abbauzellen der Leukozyten im Blut. Fol. haematolog. 65 (1941/42) S. 195 - 202.

41. Zeiss Informationen: Interferenzeinrichtung für Durchlichtmikroskopie. Druckschrift 40-560/I-d. S. 6 - 39.

42. Zimmer, F.H. and M.M. Hargraves: The Effect of Blood Coagulation on LE-Cell Formation. Proc. Staff Meet. Mayo Clin. 27 (1952), S. 424 - 434.

43. Zinkham, W.H. and C.L. Conley: Some Factors Influencing the Formation of the LE Cells. A Method for Enhancing LE Cell Production. Bull. Johns Hopkins Hosp. 98 (1956), S. 102 - 118.

44. Zollinger, H.U.: Cytology Studies with the Phase Microscope; Morphologic Changes Associated with the Death of Cells in vitro and in vivo. Am. J. Path. 24 (1948), S. 1039 - 1051.

Herrn Prof. Dr. med. Hans-Joachim E n g e l
danke ich für die Überlassung des Arbeitsthemas
und für die hilfreiche Anleitung und Beratung.

Frau Regina S c h ü t z danke ich besonders
für die Unterstützung bei der Arbeit sowie bei
der Herstellung der Fotogramme und des Films.

Bisherige Veröffentlichungen:

1. Untersuchungen mit radioaktiv markiertem Knochenzement bei Kombinationsosteosynthesen. Langenbecks Arch. Chir. Suppl. Chir. Forum 1972, S. 35 - 37.

2. Die Behandlung der Olecranonfraktur. Niedersächs. Ärzteblatt 46 Nr. 22 (1973), S. 706 - 707.

3. Die unterschiedliche Einheilung homologer Knochentransplantate unter den Bedingungen der Immunsuppression und des Enhancement (in Vorbereitung).

= Lebenslauf =

Am 10.12.1944 wurde ich als zweites Kind des Dr. med. H.-J. Engel und seiner Frau Margot in Berlin geboren. Ab Ostern 1950 besuchte ich dort die Schule und legte am Luisenstift, neusprachliches Gymnasium, im März 1964 mein Abitur ab.

Zum Sommer-Semester 1964 wurde ich an der Freien Universität immatrikuliert und absolvierte hier meine ärztliche Vorprüfung im August 1966. Nach einem Auslandssemester in Wien, 1966, beendete ich mein Studium an der Freien Universität mit dem Staatsexamen im März 1970 mit dem Urteil "sehr gut". Während meiner klinischen Studiensemester wie auch während meiner Medizinalassistentenzeit war ich am Physiologischen Institut, Arbeitsgruppe Prof. Dr. med. H.-J. Engel, Blutphysiologie, auch als studentische Hilfskraft tätig.

Meine Medizinalassistentenzeit teilte sich für je 4 Monate an einer allgemeinchirurgischen Abteilung sowie dem Reanimationszentrum in Berlin auf. Für je 2 weitere Monate arbeitete ich an einer Abteilung für Perinatologie sowie für Anästhesie. Zum 1.4.1971 erhielt ich meine Approbation als Arzt.

Bis zum November 1971 war ich für 7 Monate am Kreiskrankenhaus Freudenstadt, Chirurgie, als Assistenzarzt tätig. Seit dem 1.11.1971 bin ich als wissenschaftlicher Assistent am Department Chirurgie an der Medizinischen Hochschule Hannover tätig. Für je 6 Monate war ich hier in der tierexperimentellen Forschung, der unfallchirurgischen Notfallaufnahme und einer unfallchirurgischen Station tätig. Während dieser Zeit besuchte ich für 8 Wochen die Unfallkrankenhäuser in Wien, Webergasse und Meidling, als Gastarzt. Ferner war ich an der studen-

tischen Ausbildung (Notfallmedizin und klinische Visite) sowie an Fortbildungsveranstaltungen für niedergelassene Ärzte beteiligt.

Seit dem 1.4.1974 bin ich an der neurochirurgischen Klinik der Medizinischen Hochschule Hannover tätig. Mein besonderes Interesse gilt hier der Neurotraumatologie sowie der Chirurgie peripherer Nerven. Seit dem 15.4.1974 bin ich erneut in der Abdominal- und Transplantationschirurgie tätig. Ich strebe den Facharzt für Unfallchirurgie an.